



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

**ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO
PROSTŘEDÍ**

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

**MOŽNOSTI STANOVENÍ SYNTETICKÝCH VONNÝCH
LÁTEK V ODPADNÍCH VODÁCH**

OPTIONS DETERMINATION OF SYNTHETIC FRAGRANCES IN WASTEWATER

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jarmila Kašparová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.

BRNO 2018

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1182/2016
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí
Studentka: **Jarmila Kašparová**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie a technologie ochrany životního prostředí
Vedoucí práce: **prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.**
Akademický rok: 2017/18

Název bakalářské práce:

Možnosti stanovení syntetických vonných látek v odpadních vodách

Zadání bakalářské práce:

1. Vypracovat rešerši na dané téma.
2. Na základě rešerše provést výběr sledovaných analytů a metod pro jejich stanovení.
3. Výběr ověřit pomocí pilotní studie.
4. Provést stanovení analytů v reálných vzorcích odpadních vod.
5. Zhodnotit a interpretovat získané výsledky.

Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Jarmila Kašparová
student(ka)

prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc.
vedoucí práce

doc. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Syntetickými vonnými látkami (musk compounds) rozumíme uměle vyrobené organické sloučeniny, které se aplikují jako vonné složky drogistických a kosmetických přípravků. Přítomnost musk sloučenin bývá prokazována ve všech složkách životního prostředí. Největší pozornost je však věnována přečištěné odpadní vodě, která je častým zdrojem znečištění povrchových vod. Fyzikálně-chemické vlastnosti musk sloučenin způsobují jejich akumulaci v živých i neživých složkách ekosystému, kde se chovají jako perzistentní polutanty. Předložená bakalářská práce se zabývá problematikou stanovení jednotlivých musk sloučenin, a to všech skupin vedle sebe. V rámci bakalářské práce bylo sledováno devatenáct musk sloučenin ze čtyř skupin, nitromusk sloučeniny, makrocyclické musk sloučeniny, lineární musk sloučeniny a polycyclické musk sloučeniny. Hlavním cílem této práce bylo optimalizovat metodu pro stanovení všech skupin musk sloučenin vedle sebe, zhodnotit a interpretovat výsledky. Mikroextrakce tuhou fází (SPME) byla použita jako metoda pro extrakci analytů. Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní detekcí byla aplikována pro finální analýzu, jako detektor byl použit průletový analyzátor.

ABSTRACT

Synthetic fragrances (musk) are artificially made organic compounds, which are used as fragrances in pharmaceutical and cosmetic products. The presence of musk is proven in all environmental compartments. However, the greatest attention is paid to purified waste water, which is a frequent source of pollution of surface water. The physico-chemical properties of musk compounds cause their accumulation in the living and non-living components of the ecosystem, where they behave as persistent pollutants. The presented bachelor thesis deals with the problem of determining individual musk compounds of all groups side by side. In the bachelor thesis, nineteen musk compounds of four groups, nitromusk compounds, macrocyclic musk compounds, linear musk compounds, polycyclic musk compounds were studied. The basis of this work was to optimize the method for determining all groups of musk compounds side by side, evaluating and interpreting the results. Solid phase microextraction (SPME) was used as a method for extracting analytes. Gas chromatography in conjunction with mass spectrometry was used for the final analysis, as a detector was used for a Time of flight analyzer.

KLÍČOVÁ SLOVA

Musk sloučeniny, nitromusk sloučeniny, makrocyclické musk sloučeniny, lineární musk sloučeniny, polycyclické musk sloučeniny, mikroextrakce tuhou fází, plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií, průletový analyzátor

KEYWORDS

Musk compounds, nitromusk compounds, macrocyclic musk compounds, linear musk compounds, polycyclic musk compounds, solid-phase microextraction, gas chromatography-mass spectrometry, time of flight detector

KAŠPAROVÁ, J. *Možnosti stanovení syntetických vonných látek v odpadních vodách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 62 s. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Milada Vávrová, CSc..

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování

Ráda bych poděkovala prof. RNDr. Miladě Vávrové, CSc. za odborné vedení mé bakalářské práce, odbornou pomoc a trpělivost. Poděkování patří také Ing. Tereze Švestkové za ochotu a velmi cenné rady při řešení této práce. Velice děkuji také svým nejbližším za neustálou podporu.

1 ÚVOD.....	7
2 TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1 Čich a chuť.....	8
2.2 Vůně.....	8
2.3 Historie používání vonných látek a rozvoj kosmetických prostředků	9
2.3.1 Současné používání a syntéza vonných látek	10
2.4 Vonné látky.....	10
2.4.1 Přírodní vonné látky.....	10
2.4.2 Metody získávání přírodních vonných látek.....	11
2.4.3 Syntetické vonné látky.....	12
2.4.4 Musk sloučeniny	12
2.4.5 MUSK v životním prostředí	16
2.4.6 Toxicita MUSK.....	17
2.5 Analytické stanovení.....	17
2.5.1 Úprava vzorků před analýzou	17
2.5.2 Extrakce tuhou fází	17
2.5.3 Mikroextrakční techniky.....	18
2.6 Vlastní analýza.....	22
2.6.1 Chromatografie	22
2.6.2 Plynová chromatografie (GC).....	22
2.6.3 Průletový analyzátor (TOF)	24
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
3.1 Použité chemikálie, standardy, přístroje a pomůcky	26
3.2 Pracovní postup.....	27
3.2.1 Příprava roztoků pro optimalizaci metody SPME	27
3.2.2 Výběr vhodných parametrů pro GC/MSTOF	28
3.2.3 Optimalizace SPME.....	29
3.2.4 Identifikace	30
4 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	32
4.1 Optimalizace teplotního programu	32
4.2 Optimalizace SPME.....	34
4.2.1 Aktivace vláken	34

4.2.2 Vliv teploty na sorpci.....	34
4.2.3 Výběr typu vlákna.....	37
4.2.4 Doba sorpce	38
4.2.5 Vliv vysolování a přímé ponoření	38
4.2.6 Optimalizovaná metoda SPME.....	39
5 Závěr.....	42
6 LITERATURA	43
7 Seznam použitých zkratk	48
8 přílohy.....	49

1 ÚVOD

Syntetické vonné látky jsou hojně používány jako vonné složky drogistických a kosmetických přípravků. V průběhu historie se používali pouze přírodní vonné látky. Od 70. let 19. století přichází výroba syntetických vonných látek. Spotřeba syntetických vonných látek každým rokem stoupá. Ke zvýšení spotřeby syntetických vonných látek výrazně přispělo zvyšování hygienických nároků. V poslední době poukázala řada studií na akumulaci těchto látek v životním prostředí a chování látek jako perzistentní organické polutanty. Zdrojem těchto látek v životním prostředí je člověk. Odpadní voda obsahující musk sloučeniny nebývá úplně vyčištěna, a malé koncentrace jsou vypouštěny do recipientu.

Cílem této bakalářské práce bylo optimalizovat metodu stanovení vybraných musk sloučenin ze všech čtyř skupin těchto látek. Jako vhodná metoda pro izolaci analytů bude použita mikroextrakce tuhou fází (SPME). Pro identifikaci analytů bude použita plynová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Čich a chuť

Základní informace o okolním prostředí získáváme pomocí smyslových orgánů. Smysly jsou schopnosti organismu, které nám umožňují vnímat okolní prostředí; rozlišujeme jich základních pět. Jsou jimi hmat, sluch, zrak, čich a chuť. U vyšších organismů jsou vjemy zachycené smyslovými orgány přenášeny nervovými vlákny do příslušných mozkových center, přičemž rozsah vnímání je velmi specifický i v rámci jednoho druhu. Různé druhy mají smysly vyvinuté podle povahy prostředí, ve kterém žijí, rovněž v rámci druhu mají jedinci různě vyvinutou citlivost smyslů. Hlavní smysly, na které vonné látky působí, jsou chuť a čich. Čich a chuť jsou orgány založené na chemoreceptorech, tj. buňkách, které reagují na působení chemických látek [1; 2].

Čichové ústrojí je drážděno pachovými látkami rozptýlenými ve vzduchu. Jako receptory fungují čichové buňky tyčinkovitého tvaru s vláskovými výběžky nacházející se na čichovém políčku v horní části nosní přepážky a stropu nosní dutiny. Výběžky čichových buněk procházejí otvory v čichové kosti do lebeční dutiny a vstupují do čichového mozku, kde se přepojují [2].

Chuťové ústrojí je drážděno látkami rozpustnými ve slinách. Ústrojí je tvořeno chuťovými pohárky uloženými ve slizničním epitelu na jazyku, měkkém patře a v horní části hltanu. Chuťovými receptory jsou chuťové buňky pohárků, které jsou opředeny vlákny mozkových nervů. Rozlišujeme čtyři základní chuťové pocity: slano, sladko, hořko a kyselo [2].

2.2 Vůně

Vůni rozumíme organoleptickou vlastnost některých látek; tyto látky potom označujeme za látky vonné. Vonné látky mohou způsobovat příjemný i nepříjemný vjem. Lidé odpradáвна přirozeně vyhledávali a cenili si látek vyvolávající vjem příjemný. Je důležité brát ohled na koncentraci vonné látky. Velmi nízké koncentrace určité látky nemusí vyvolat žádnou odezvu v čichovém nebo chuťovém ústrojí. Optimální koncentrací je odezva způsobující příjemný vjem, avšak velmi koncentrované látky mohou způsobit odezvu nepříjemnou. Příkladem je furylmethanthiol, který ve vysoké koncentraci při přičichnutí vyvolá odporný zápach a naopak při nízké koncentraci vyvolá vůni připomínající čerstvě praženou kávu. Existují i látky mající při různých koncentracích odlišné vůně [3].

Vonné látky působící příjemné pocity a uvolnění byly dříve vyhledávaným obchodním artiklem; také dnes se z výroby vonných látek stalo významné průmyslové odvětví. Většině z nás se pojem vůně spojí s parfumerií, která rozlišuje různé typy vůní. Třídících systémů je mnoho, jeden z nich, který byl vypracován firmou Haarman+Reimer dělí vůně do šesti hlavních skupin s dvaceti podskupinami. Hlavní skupiny jsou květinové, orientální, chyprové, fougérové, citrusové a levandulové [3; 4].

Parfémová kompozice je koncentrovaná směs vonných látek přírodního nebo syntetického původu. Vonné kompozice a hotové parfémy sestavuje parfumér za předem určeným účelem, buď napodobováním předloh nebo vytvářením kompozic na základě vlastního výzkumu.

Všechny parfémované kompozice jsou sestavovány ze 4 skupin látek. Každá skupina je složena z určitého počtu vonných látek různého původu [5].

1. **Základní látky** mají vysoký bod varu a dlouho uchovávají svoji vůni.
2. **Upravované látky** slouží ke zjemnění základu.
3. **Působivé látky** se používají k dosažení originality.
4. **Ustalovací látky** spojují jednotlivé složky v celek, zvyšují přilnavost, stabilitu a také trvanlivost vůně [5].

2.3 Historie používání vonných látek a rozvoj kosmetických prostředků

Používání vonných látek úzce souvisí s potřebou zkrášlování a osobní hygienou. Spotřeba vonných látek vždy odrážela životní úroveň společnosti a společenských tříd, které si mohly dovolit drahé vonné látky [5; 6].

Už ve starém Egyptě lidé velmi dbali o tělesnou hygienu a vzhled. Vonné oleje a masti měly velký význam. K tělům zemřelých byly přidávány posvátné oleje na cestu do podsvětí. Staří Egyptané si čistili zuby myrtou nebo dřevěnými vonnými paličkami, zvýrazňovali si oči očními linkami, barvili si vlasy i jiné části těla henou. Byly nalezeny Kleopatřiny svitky s texty o hygieně a zkrášlování. Papyrus Ebersův z let přibližně 1550 př. n. l. obsahuje mimo jiné recepty na včelí vosk, olivový olej, ambru, mošus aj. [7].

Starověcí Řekové si zhotovovali vlastní toaletní vody, které kromě ovonění těla používali také k potírání vybavení svých obytných prostor. Ke spotřebě kosmetických prostředků docházelo hlavně během koupelí, a kromě vonných olejů a mastí byly používány rostlinné voňavky z růže, máty, lilie a fialek. Celková spotřeba vonných látek byla velká, proto bylo obyvatelům měst někdy zakazováno plýtvat vonnými esencemi, především kvůli obavám ze spotřebování všech vonných rostlin v okolí města. Tyto obavy přicházely ze strany církve, protože před vstupem do chrámů se vždy Řekové očišťovali vonnými oleji [7; 8].

Také ve starověkém Římě byla péče o tělo a jeho krášení populární, a to hlavně díky veřejným koupelím, které se těšily velké oblibě. Kosmetikou se zde zabýval významný lékař Claudius Gallenos, který jako první rozdělil kosmetiku do dvou oblastí. První oblast byla zaměřená na všestrannou péči o tělo a jeho zkrášlování, druhá oblast zejména na odstraňování a zakrývání vad na kráse. Období starověkého Egypta, Řecka a Říma je obdobím, ve kterém bylo vonných esencí, olejů a mastí hojně používáno [7].

V Evropě ve 4. st. n. l. nastal úpadek v používání kosmetiky; byl spojený s nástupem období křesťanství a to hlavně proto, že tato církev hlásala přísnou askezi. Nicméně v arabské kultuře se informace o technikách zkrášlování těla a výroby kosmetiky zachovaly. Dokonce dochází k rozvíjení destilačních technik, důležitých pro izolaci různých vonných esencí z rostlin [8].

Osobní hygiena se v Evropě netěšila velké oblibě v období renesance a rokoka. Byla rozšířena především myšlenka škodlivosti koupele na zdraví člověka. Negativem této doby bylo rozšíření vší, pozitivem byl rozvoj vonných látek, parfémů a dekorativní kosmetiky [7]. Od 17. století se stává Itálie centrem kosmetiky, především v italských městech Benátkách, Janově a Florencii. Na přelomu 18. století se toto centrum přesouvá do Francie [9].

Přelom 19. století byl obdobím rozvoje vědních disciplín, biologie, chemie, medicíny, techniky aj., což bylo příznivé pro rozvoj výroby kosmetických prostředků. První průmyslově vyrobený kosmetický výrobek pocházel z Německa, protože v Kolíně nad Rýnem byla v roce 1792 vyrobena kolínská voda s názvem „Eau de Cologne 4711“ [10].

2.3.1 Současné používání a syntéza vonných látek

V průběhu historie se používali pouze přírodní vonné látky. Bylo používáno přibližně 200 sloučenin [4]. Jedna z prvních, pro kosmetický průmysl důležitých, synteticky vyrobených vonných látek byl kumarin, který byl vyrobený v 70. letech 19. stol [4]. Následovaly syntetické výroby vanilinu a heliotropinu. Syntéza vanilinu byla provedena v roce 1874 duem německých vědců Tiemann a Reimer [11]. První mošusově vonící látku syntetizoval v 90. letech 19. stol. Baur, jednalo se o tzv. Baurovo pižmo. Albert Baur toto pižmo objevil náhodou, když chtěl najít způsob, jak získat sloučeninu s vlastnostmi podobnými trinitrotoluenu (TNT). V roce 1888 však vytvořil silně vonící sloučeninu. Hledání sloučenin odpovědných za mošusový zápach podněcovalo syntézu dalších podobných sloučenin. Heinrich Walbaum z firmy Schimmel & Co., jako první našel v roce 1906 keton, kterému dal název „Muscone“. Chemickou strukturu Musconu objevil v 30. letech 20. století profesor Leopold Ružička; výsledky publikoval prostřednictvím studie, za kterou dostal v roce 1939 Nobelovu cenu za chemii [12]. Vědci se postupně naučili vyrábět Muscone a další přírodní makrocyclická pižma, Exaltone a Civetone v laboratořích [12].

Ke zvýšení spotřeby vonných látek přispělo hlavně rozšiřování hygienických zásad. Rozvoj výroby a spotřeby vonných látek se výrazně projevil v období po druhé světové válce a tento vzestupný trend pokračuje dodnes [5; 4]. Zrychlující se tempo výroby nastalo také v souvislosti s novými módními trendy. Současně s novými trendy v módě vzrůstala také poptávka po kosmetických výrobcích a zvyšovala se jejich spotřeba. Kosmetické výrobky se stávaly přístupnější pro širší okruh spotřebitelů, což úzce souviselo s četností používání těchto výrobků. Použití kosmetických výrobků ke zkrášlování už nebylo výsadou velmi bohatých lidí, ale mohla si je dovolit širší skupina lidí [6].

2.4 Vonné látky

2.4.1 Přírodní vonné látky

Přírodní vonné látky mají živočišný nebo rostlinný původ. K získávání vonných substancí slouží aromatické neboli siličnaté rostliny [5]. Vonné látky vyprodukované rostlinami jsou většinou nerozpustné ve vodě, avšak jsou rozpustné v organických rozpouštědlech. Tyto specifické vůně mají zejména rostlinné silice, tj. směsi těkavých látek, dříve označované jako éterické oleje. Silice jsou vytvářeny a vyměšovány zvláštními rostlinnými orgány obsahujícími zvláštní siličné buňky [4].

V současnosti známe přibližně 1700 rostlinných druhů obsahujících silice, z nichž je asi 200 významných pro jejich praktické využití. Z důležitých a známých zástupců lze jmenovat následující: andělíka, anýz, badyán, bazalka, celer, citronella, citrusy, čaj, elemi, estragon,

eukalypt, fenykl, fialka, galbanum, galgán, geranie, hřebíček, iris, jasmín, jehličnany, kardamon, kmín, kopr, koriandr, labdamun, levandule, libeček, majoránka, máta, mimóza, muškát, myrha, olibanum, origanum, pačule, pelyněk, pepř, piment, rozmarýna, růže, santal, skořice, styrax, šalvěj, tonka, tuberóza, tymián, vanilka, vavřín, vetyver, větvičník slívový, ylang-ylang a zázvor [3].

Vonné látky vznikají v rostlinách dvěma způsoby. První z nich je mevalonátový biogenetický proces. Mevalonátovým biogenetickým procesem vzniká nejdříve kyselina mevalonová jako meziprodukt, následuje vznik prekurzorů terpenů a vznik všech terpenických látek vyskytujících se v silicích. Rostlina produkuje terpeny za účelem obrany proti škůdcům a požeru. Monoterpeny jsou společně s aromáty hlavními složkami vůně kvetoucích rostlin, jejichž hlavní význam je v přilákání opylovače. Nejčastějšími látkami obsaženými v květní vůni jsou linalool a benzaldehyd. Často jsou některé složky květní vůně stejné jako některé složky feromonů opylovačů [13; 3].

Druhým procesem je proces šikimátový (fenylpropanový). Šikimátovým procesem vzniká z výchozí glukózy meziprodukt šikimátová kyselina, která se dále syntetizuje na skořicovou kyselinu. Ze skořicové kyseliny se potom postupně syntetizují aromatické sloučeniny, kumariny a jejich deriváty, a také látky fenolické povahy [13; 3].

Vonné látky je možné získat i z částí těl živočichů. Součástí těla bobra evropského je žláznový váček obsahující kastoreum. Výtažek z kastorea je používán jako fixater v pánské kosmetice. Cibetka je malá šelma vyměšující cibet, tj. látku použitelnou pro zjemnění parfémů. Kabar pižmový vytváří váček s obsahem mošusu, což je sekret, ze kterého se vyrábí velmi vonná látka se silným fixačním účinkem. Vorvaň, největší zástupce z ozubených velryb, produkuje ve svém žaludku ambru, velmi vzácnou látku sloužící ke zjemnění nejdražších parfémů. Ambra je nejlepší fixater [3; 5].

Tabulka 1.: *Trvanlivost vůně některých umělých vonných látek a silic* [5]:

<i>Název</i>	<i>Trvanlivost v hodinách</i>	<i>Název</i>	<i>Trvanlivost v hodinách</i>
Hexanol	6	Vetiverol	360
Citronelol	120	Skořicový aldehyd	246
Indol	168	Eugenol	192
Ethylcinnamát	144	Geraniol	192
Kumarin	384	Vanilín	1440

2.4.2 Metody získávání přírodních vonných látek

Enfleurage je nejstarší metodou extrakce, při níž dochází k extrakci tukovým rozpouštědlem. Surovina obsahující silice se rozprostře na vrstvu tuku a pokrývá se plátnem, také napuštěným tukem. Tak je silici umožněno pozvolna přecházet do tuku, ze kterého se

silice extrahuje ethanolem. **Lisování za studena** se používá pro získávání vonných silic z citrusových plodů a spočívá v lisování oplodí čerstvých citrusů. **Destilace vodní parou** je oblíbenou a nejrozšířenější metodou extrakce vonných substancí. Rostlinný materiál se nejdříve smísí s vodou, potom je do směsi vháněna vodní pára, která strhává těkavé složky. Směs vodní páry a těkavých složek se následně dělí pomocí chladiče. **Destilace pomocí organických rozpouštědel** se často používá v kosmetickém průmyslu. Jako rozpouštědlo se používá např. toluen [14].

2.4.3 Syntetické vonné látky

Syntetické vonné látky jsou velmi důležité suroviny v kosmetickém průmyslu. Nalezneme je v hlavních organických skupinách látek, kterými jsou uhlovodíky, alkoholy, aldehydy, ketony, estery, laktony, oxidy, fenoly, acetalý a dusíkaté sloučeniny [15; 16]. Mají za úkol skrýt případné pachy z ostatních surovin a zvýšit celkový dojem kosmetického výrobku. Velmi důležitým požadavkem při výrobě syntetické vonné látky je stabilita v prostředí, ve kterém bude aplikována. Tato skutečnost je z hlediska kvality výrobku výborná, avšak z hlediska degradace těchto látek v životním prostředí není optimální [4].

2.4.4 Musk sloučeniny

Musk sloučeniny jsou přírodní nebo syntetické mošusové látky. Svoje využití mají jako fixátory a zesilovače vůní v parfémtech, případně jako přísady běžné kosmetiky a pracích prostředků. Světová produkce syntetických mošusových vonných sloučenin každým rokem roste [17].

Musk sloučeniny lze podle chemické struktury rozdělit do 4 skupin:

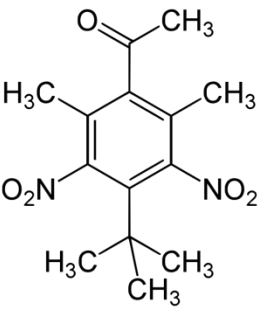
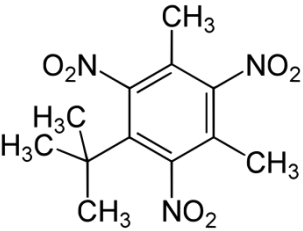
- Nitromusk
- Polycyklické musk
- Makrocyklické musk
- Lineární musk.

2.4.4.1 Nitromusk sloučeniny

Nitromusk sloučeniny jsou syntetické varianty přírodních sloučenin získávaných ze samčích žláz pižmoně [18]. Skupina Nitromusk sloučenin byla objevena Albertem Baurem v 90. letech 19. stol. Objevené nitromusk sloučeniny tvořily základ parfémů až do 50. let 20. Století. Tato skupina látek má na svém aromatickém kruhu navázanou jednu nebo více nitroskupin [12].

Významnými zástupci této skupiny jsou musk xylen a musk keton. Obě sloučeniny byly poprvé identifikovány v životním prostředí v roce 1981. Musk xylen a musk keton se do vodního prostředí dostávají převážně z čistíren odpadních vod. Také byla prokázána jejich schopnost se akumulovat ve vodních ekosystémech. Mimo jiné byly tyto dvě látky detekovány v tukových tkáních a mateřském mléce [19].

Tabulka 2.: Vybrané vlastnosti a vzorce nitromusk sloučenin [20; 21]:

Musk keton		
	IUPAC název	1-(4-tert-butyl-2,6-dimethyl-3,5-dinitrophenyl)ethanone
	CAS	81-14-1
	Molekulový vzorec	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₅
	Molekulová hmotnost	294,307 g/mol
	Rozpustnost ve vodě (25°C)	0,46 mg/l
	log K _{OW}	4,30
Musk xylen		
	IUPAC název	1-tert-butyl-3,5-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzene
	CAS	81-15-2
	Molekulový vzorec	C ₁₂ H ₁₅ N ₃ O ₆
	Molekulová hmotnost	297,267 g/mol
	Rozpustnost ve vodě (25°C)	0,15 mg/l
	log K _{OW}	4,4

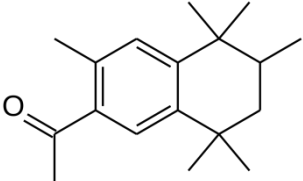
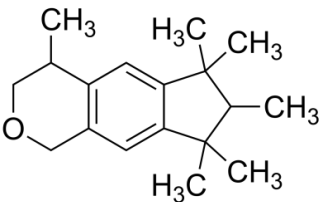
2.4.4.2 Polycyklické Musk sloučeniny

Nitromusk sloučeniny byly sice nenákladné na přípravu a měly pěknou a příjemnou vůni, avšak byly reaktivní a nestabilní. Jejich použití v kosmetických výrobcích bylo proto velmi omezené. Kurt Fuchs objevil v roce 1951 látku, u které však neznal její strukturu; tuto látku pojmenoval Phantolid. Phantolid byl stabilní v alkalickém prostředí a proto byl ideální pro použití v detergitech. V následujících letech byla popsána struktura Phantolidu a tato nově objevená polycyklická struktura dala vzniknout dalším, tzv. polycyklickým syntetickým pižmům [12].

Produkce polycyklických látek dominuje nad ostatními skupinami. Dva zástupci ze skupiny polycyklických musk sloučenin, galaxolid a tonalid jsou na seznamu chemických látek EPA látkami s velkým objemem výroby [22].

Polycyklické musk sloučeniny:

Tabulka 3.: Vybrané vlastnosti a vzorce polycyklických musk sloučenin [20; 21].

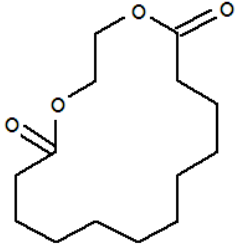
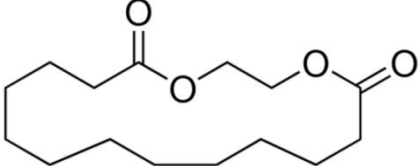
Tonalid		
	IUPAC název	1-(3,5,5,6,8,8-hexamethyl-6,7-dihydronaphthalen-2-yl)ethanone
	CAS	1506-02-1
	Molekulový vzorec	C ₁₈ H ₂₆ O
	Molekulová hmotnost	258,405 g/mol
	Rozpustnost ve vodě (25°C)	1,25 mg/l
	log K _{OW}	5,70
Galaxolid		
	IUPAC název	4,6,6,7,8,8-hexamethyl-1,3,4,7-tetrahydrocyclopenta[g]isochromene
	CAS	1222-05-5
	Molekulový vzorec	C ₁₈ H ₂₆ O
	Molekulová hmotnost	258,405 g/mol
	Rozpustnost ve vodě (25°C)	1,75 mg/l
	log K _{OW}	5,90

2.4.4.3 Makrocyclické musk sloučeniny

Zvýšení produkce makrocyclických musk látek nastalo poté, jakmile se na základě vědeckých poznatků začalo diskutovat o toxicitě nitromusk sloučenin. Nitromusk sloučeniny se proto začaly aplikovat používat méně a začaly je nahrazovat makrocyclické musk sloučeniny. Makrocyclické musk látky nejsou používány tak široce jako polycyclické musk látky, a to především z důvodu vysoké ceny jejich syntézy, a to i přes mnohé jiné výhody [22].

Makrocyclické musk sloučeniny:

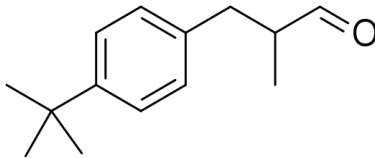
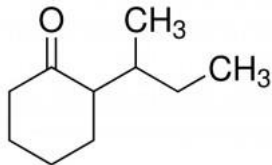
Tabulka 4.: Vybrané vlastnosti a vzorce makrocyclických musk sloučenin [23; 21]:

Musk MC4		
	IUPAC název	1,4-dioxacyclohexadecane-5,16-dion
	CAS	54982-83-
	Molekulový vzorec	C ₁₄ H ₂₄ O ₄
	Molekulová hmotnost	256,342 g/mo
	log K _{OW}	2,33
Etylen brassylát		
	IUPAC název	1,4-dioxacycloheptadecane-5,17-dione
	CAS	105-95-3
	Molekulový vzorec	C ₁₅ H ₂₆ O ₄
	Molekulová hmotnost	270,369 g/mol
	log K _{OW}	4,7

2.4.4.4 Lineární musk sloučeniny

Jedná se o nejmladší skupinu MUSK sloučenin, které jsou často označovány jako alifatické nebo alicyklické sloučeniny. První objevenou sloučeninou byl Cyclomusk, který byl syntetizován Wernerem Hoffmanem a Karlem von Fraunbergem v roce 1975. V této době byl nejvíce oblíbený Galaxolid a Cyclomusk s ním nemohl soupeřit. Později se začal klást větší důraz na ochranu životního prostředí, a proto v roce 1990 byl od Cyclomusku odvozen Helvetolid a o 10 let později Romandolid [12; 24].

Tabulka 5.: Vybrané vlastnosti a vzorce lineárních musk sloučenin [20; 21]:

Lilial		
	IUPAC název	3-(4-tert-butylphenyl)-2-methylpropanal
	CAS	80-54-6
	Molekulový vzorec	C ₁₄ H ₂₀ O
	Molekulová hmotnost	204.313 g/mol
	Rozpustnost ve vodě (25°C)	7,86 mg/l
	log K _{OW}	4,36
Fresco menthe		
	IUPAC název	2-butan-2-ylcyclohexan-1-one
	CAS	14765-30-1
	Molekulový vzorec	C ₁₀ H ₁₈ O
	Molekulová hmotnost	154.253 g/mol
	Rozpustnost ve vodě (25°C)	222,7 mg/l
	log K _{OW}	2,94

2.4.5 MUSK v životním prostředí

Syntetické MUSK sloučeniny jsou zařazovány mezi mikropolutanty a lze je detekovat v různých složkách životního prostředí. Na obsah syntetických vonných látek v životním prostředí má vliv používání spotřebního zboží, jako jsou čisticí prostředky, případně prostředky osobní péče a hygieny [17].

Dopad MUSK sloučenin na biotu a ekosystém je velkým problémem, kterým se zabývá stále více vědeckých skupin. Polycyklické MUSK a nitromusk sloučeniny mají lipofilní povahu, což vede k jejich pomalé biodegradaci. Díky lipofilní povaze mají tyto látky tendenci se bioakumulovat v různých složkách životního prostředí, jakými jsou kaly, sedimenty, rostlinná i živočišná biota [25].

Důležitým zdrojem MUSK sloučenin jsou odpadní vody. Odpadní voda, která je přečištěna v čistírnách odpadních vod (ČOV), může obsahovat na odtoku až 40 % MUSK sloučenin z původní přítokové koncentrace [26]. Tato voda je potom vypouštěna do recipientu, kde dochází k akumulaci v různých složkách ekosystémů [27].

Znečištěné vody můžeme definovat jako vody, u kterých proběhla změna fyzikálních, chemických a biologických vlastností. Tato změna omezuje nebo znemožňuje použití vody ke zvolenému účelu, a to hlavně pro obsah znečišťujících látek. Znečišťujících látek je mnoho a

rozdělují se na rozpuštěné a nerozpuštěné ve vodě. Obě skupiny se potom dále dělí na organické a anorganické. Další dělení ve skupinách je podle jejich charakteru, a to na biologicky rozložitelné a nerozložitelné, usaditelné a neusaditelné, koloidní a plovoucí. Technologie čistícího procesu vychází z obsahu a charakteru znečišťujících látek a měly by být splněny požadavky na účinnost procesu, energetickou nenáročnost a ekonomickou přijatelnost. Důležité také je, aby do čištěné vody nebyly vnášeny další znečišťující látky. Při čištění odpadních vod se využívá mechanických, chemických, fyzikálně-chemických, biologických aerobních a biologických anaerobních procesů [27].

Odpadní vody rozdělujeme na vody pocházející z domácností (splašky), průmyslové odpadní vody, dešťové odpadní vody a odpadové vody infekční. Tyto odpadní vody se čistí a následně vypouští do vodních toků [27].

2.4.6 Toxicita MUSK sloučenin

Toxicita MUSK sloučenin závisí na fyzikálně chemických vlastnostech látek, které určují také chování sloučeniny v živém organismu. Akutní toxicita MUSK sloučenin je celkově nízká. Chronická toxicita je sice možná, nicméně některé zdroje uvádí bezpečnost MUSK sloučenin při běžném užívání [28].

2.5 Analytické stanovení

2.5.1 Úprava vzorků před analýzou

Stanovení těkavých organických látek v přírodních vodách předchází předúprava vzorku. Zakoncentrování takového vzorku je často nezbytné, protože koncentrace analytu se pohybují v rozmezí koncentrací ng/l - µg/l. Přípravu vzorků ke stanovení těkavých organických látek ve vodě je možné realizovat pomocí následujících metod: statické a dynamické headspace techniky, extrakce kapalina-kapalina, extrakce a mikroextrakce na tuhou fázi, destilační nebo membránové techniky. Také je možné vodný vzorek nastříknout přímo [29].

2.5.2 Extrakce tuhou fází

Při extrakci tuhou fází (Solid phase extraction, SPE) dochází k separaci molekul analytu mezi sorbentem a kapalnou fází. Při SPE se uplatňuje rovnováha mezi tuhou fází a kapalnou fází, ve které jsou analyty. SPE je vhodnou a často používanou technikou pro netěkavé a středně těkavé látky. Sorbenty jsou většinou založeny na bázi chemicky modifikovaných částic silikagelu. Sorbenty mohou být uloženy v trubičkách z polypropylenu nebo ze skla. Sorbent může být také slisován se skleněnými vlákny do disku. Charakter sorbentu určují funkční skupiny v něm obsažené. SPE je technika v dnešní době často využívaná, zejména pro její dobrou účinnost zakoncentrování, poměrně nízkou spotřebu organických rozpouštědel a časovou nenáročnost [30; 31].

Provedení techniky SPE zahrnuje následující kroky [31]:

- **Výběr vhodné SPE trubičky nebo disku**
Při výběru zohledňujeme typ fáze, množství sorbentu a velikost kolonky nebo disku. Na trhu jsou kolonky, které obsahují kombinace sorbentů. První varianta je kombinace oktylové fáze (C8) a silného katexu, kyseliny benzensulfonové. Druhou variantou je kombinace dvou nebo tří sorbentů, vzájemně oddělených PE fritami.
- **Kondicionace**
Kondicionace SPE kolonek se provádí za účelem aktivace sorbentu před extrakcí analytu z matrice a je závislá na typu sorbentu.
- **Nadávkování vzorku**
Různé objemy vzorku se dávkuje na SPE kolonky, přitom rychlost by neměla překročit 5 ml/min.
- **Promytí**
Promytí se provádí po zachycení analytů na kolonce a používá se na ně stejné rozpouštědlo, jako bylo použito při izolaci z matrice. Cílem je odstranění nežádoucích látek, které se na kolonce také zachytily, avšak později by mohly rušit finální stanovení analytu. V případě, že se na kolonce analyt nezachytí, můžeme využít toho, že se na kolonce zachytily alespoň nežádoucí příměsi.
- **Vymytí analytu**
V případě zachycení analytu na kolonce a následném vymytí nežádoucích látek se analyt vymyje z kolonky malým množstvím rozpouštědla. Objemy se pohybují od 200 µl do maximálně poloviny celkového objemu SPE kolonky.

2.5.3 Mikroextrakční techniky

Mikroextrakční techniky se dělí na ty, které využívají sorbent a ty, které využívají rozpouštědlo [30].

2.5.3.1 Mikroextrakce jednou kapkou

Mikroextrakce jednou kapkou (single drop microextraction, SDME) je zminiaturizovaná technika extrakce kapalina - kapalina. Principem je extrakce analytů přítomných ve vzorku do malé kapky organického rozpouštědla (obvykle má kapka objem jeden nebo několik mikrolitrů). Malá kapka organického rozpouštědla je umístěna v dolní části jehly mikrostříkačky. Po extrakci je kapka rozpouštědla nasáta do mikrostříkačky kompatibilní s injekčním portem plynového chromatografu. Obsah mikrostříkačky je nastříknut do plynového chromatografu. Realizovat SDME lze dvěma způsoby, buďto přímou sorpcí analytů z roztoku (DI-SDME), případně sorpcí analytů z plynné fáze nad vzorkem (HS-SDME) [32].

2.5.3.2 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Mikroextrakce na tuhou fázi je sorpčně desorpční technika využívaná v analýze životního prostředí pro nízké koncentrace analytů. Tato technika byla vyvinuta v roce 1990, později byla optimalizována pro širší analytické využití. Výhodou techniky je nízká spotřeba

rozpouštědel. Tato metoda významně nezatěžuje životní prostředí, pokud se spotřeby rozpouštědel týče. Při mikroextrakci analytu na tuhou fázi, která je realizována SPME vláknem, dochází k izolaci a zakoncentrování analytu. Mezi matricí vzorku a stacionární fází se ustanovuje rovnováha [33].

Metoda je použitelná v kombinaci s náplňovými i kapilárními kolonami v plynové chromatografii, kterou lze použít i při spojení s hmotnostní spektrometrií. Techniku lze rovněž zkombinovat s HPLC. Realizovat SPME je možné dvěma způsoby, buď přímou sorpcí analytů z roztoku (DI-SPME) nebo sorpcí analytů z plynné fáze nad vzorkem (HS-SPME). Při použití metody pro stanovení obsahu analytů je zapotřebí nejdříve zvolit vhodný typ vlákna a optimalizovat metodu vzorkování, teprve potom je možné provést sorpci a následně desorpci analytů [30; 31; 34].

Nejvíce používaný způsob odběru vzorků SPME je vystavení tenké polymerní vrstvy přímo matrici, a to po předem danou dobu. Transport analytů mezi matricí a polymerní vrstvou probíhá ihned po vystavení vlákna matrici. Jakmile dosáhne koncentrace analytů distribuční rovnováhy, považujeme SPME za ukončenou.

Rovnovážné podmínky lze popsat rovnicí:

$$C_0 V_s = C_s^\infty V_s + C_f^\infty V_f, \quad (1)$$

kde C_0 je počáteční koncentrace ve vzorku, V_s je objem vzorku, V_f je objem polymerní vrstvy. Tato rovnice se řídí zákonem zachování hmoty ve dvoufázovém systému, v případě SPME se jedná o matrici a vlákno [35; 34].

Distribuční konstanta analytu mezi matricí a polymerní vrstvou vlákna je definována rovnicí:

$$K_{fs} = \frac{C_f^\infty V_f}{C_s^\infty V_s}, \quad (2)$$

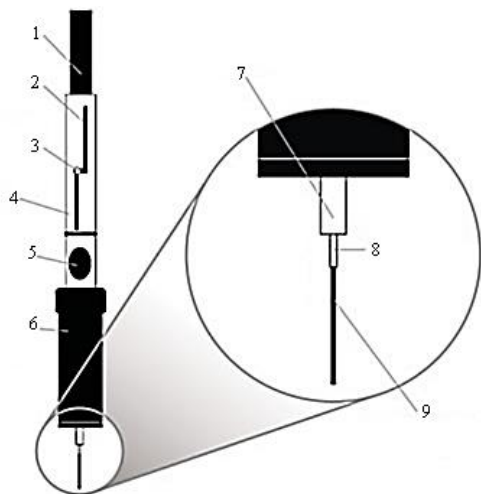
kde K_{fs} je distribuční koeficient mezi matricí a polymerní vrstvou vlákna [35].

Počet molů (n) analytu extrahovaného na polymerní vrstvě vlákna je vyjádřen rovnicí (3), která vychází z rovnic (1) a (2) [35; 36]:

$$n = C_f^\infty V_f = \frac{K_{fs} V_f V_s C_0}{K_{fs} V_f + V_s}. \quad (3)$$

Z rovnice (3) vyplývá, že množství analytu extrahovaného na vláknech nezávisí na objemu vzorku [31].

Nejdůležitější částí zařízení pro SPME je křemenné vlákno, které měří 1 cm a je pokryto polymerem. SPME vlákno je spojeno s ocelovým pístem a je umístěno v duté ocelové jehle. Ocelová jehla vlákno chrání před mechanickým poškozením, případně propíchne septum vzorkovací nádoby [31; 34]. Dále se zařízení pro SPME skládá z držáku vlákna.



Obrázek 1.: Části zařízení SPME [50]:

1. Držák vlákna
2. Štěrbina ve tvaru „Z“
3. Upevňovací kovový kolík
4. Hlaveň
5. Okénko
6. Nastavitelný držák jehly
7. Ocelová jehla
8. Vlákno pokryté polymerem
9. Vlákno

Tabulka 6.: Materiály komerčně dostupných povrchů vláken [35]:

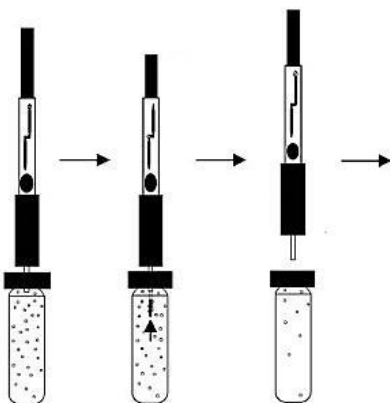
PDMS	polydimethylsiloxan
PA	polyakrylát
PDMS/DVB	polydimethylsiloxan/divinylbenzen
PEG	carbowax-polyethylenglykol
CW/DVB	carbowax/divinylbenzen
CAR/PDMS	carboxen/polydimethylsiloxan
DVB/CAR/PDMS	divinylbenzen/carboxen/ polydimethylsiloxan
C 18	oxid křemičitý C18

Možnosti SPME spojení [35]:

- SPME/GC
- SPME/MALDI
- SPME/LC

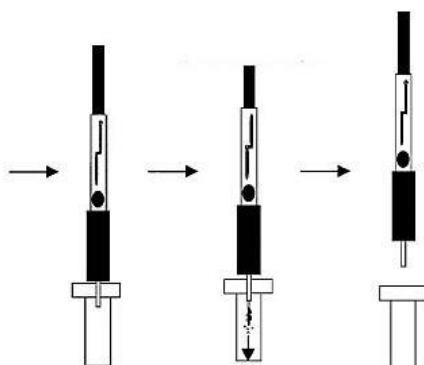
Základní kroky SPME extrakce [31; 32]:

1. **sorpce** – Ocelová jehla propíchne septum nádoby se vzorkem, dojde k vysunutí vlákna posunutím pístu; jakmile je dosaženo sorpční rovnováhy, dojde k zasunutí vlákna zpět do ocelové jehly a následně je zařízení vyjmuto z nádoby.



Obrázek 2.: *Proces sorpce* [49]:

2. **desorpce** – Ocelová jehla je vložena do nástřikového prostoru chromatografu, dojde k desorpci analytu z vlákna různým způsobem, podle zvolené analytické metody.



Obrázek 3.: *proces desorpce* [49]:

2.6 Finální analýza

Syntetické vonné organické látky se v životním prostředí vyskytují ve velmi malých koncentracích, a proto je vhodné zvolit dostatečně citlivou metodu. Vzhledem k vlastnostem MUSK sloučenin je velmi vhodnou metodou plynová chromatografie s hmotnostně-spektrometrickou detekcí [20].

2.6.1 Chromatografie

Chromatografie je souhrnné označení pro skupinu fyzikálně chemických separačních metod. Základním principem chromatografických separací je rozdělování molekul látek, prvků nebo iontů, mezi stacionární a mobilní fázi. Dělení je založeno na rozdílné distribuci složek mezi oběma fázemi; aby byla tato distribuce umožněna, musí mezi fázemi existovat fázové rozhraní. Při dělení látek nastává jejich opakované ustalování rovnováhy mezi fázemi [37].

Chromatografický systém se v ideálním případě může blížit rovnováze. Potom lze distribuci složek mezi fáze popsat distribuční konstantou K_D . $K_D = \frac{c_s}{c_m}$, kde c_m je koncentrace složky v mobilní fázi a c_s je koncentrace složky ve stacionární fázi. Čím vyšší je hodnota K_D , tím delší dobu molekuly setrvávají ve stacionární fázi a tím větší je jejich retence [38; 34].

2.6.2 Plynová chromatografie (GC)

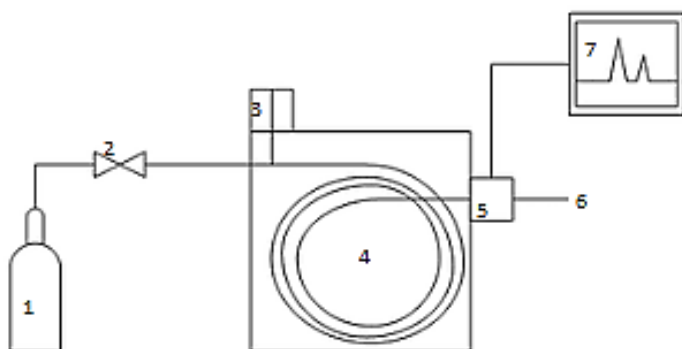
Plynová chromatografie dala základ ostatním chromatografickým metodám a v analytické chemii ji používáme již od padesátých let 20. století. V plynové chromatografii je mobilní fází inertní plyn. Dělení je založeno na rozdílné distribuci složek mezi oběma fázemi [38]. Při analýze je analyt zplyněn a injektován do chromatografické kolony. Eluce je způsobena tokem mobilní fáze, tj. inertního plynu. Inertní plyn neinteraguje s analytem a jeho funkcí je přenos analyzovaných složek od injektoru k detektoru [39]. Plynová chromatografie má široké uplatnění při stanovení organických sloučenin. Rozdělujeme ji na dva typy, plynovou adsorpční chromatografii (GSC) a plynovou rozdělovací chromatografii [34].

2.6.2.1 Provedení plynové chromatografie

Princip analýzy plynovým chromatografem probíhá následovně. Nejdříve je roztok vzorku nastříknut do nástřikového prostoru. Vzorek je rychle odpařen a unášen proudem nosného plynu kolonou umístěnou v termostatu [37]. V koloně nastává distribuce jednotlivých složek vzorku mezi obě fáze. Složky vzorku málo zadržované stacionární fází dosáhnou detektoru jako první a mají krátký eluční čas. Detektory v plynové chromatografii jsou založeny na záznamu změny signálu v čase [37].

2.6.2.2 Součásti plynového chromatografu

Zařízením pro plynovou chromatografii je plynový chromatograf. Zařízení je složeno ze zdroje nosného plynu, nástřikového bloku (injektoru), termostatu, ve kterém je umístěna chromatografická kolona, detektoru a vyhodnocovacího zařízení [40].



Obrázek 4.: Schéma plynového chromatografu [41]

Části plynového chromatografu znázorněné na obrázku č. 4 [34]:

1. Zdroj nosného plynu s regulátorem průtoku
2. Vřazené čistící zařízení
3. Nástřikový blok, vyhřívaný injektorový prostor
4. Termostat, vyhřívaný kolonový prostor
5. Detektor
6. Odpad
7. Vyhodnocovací zařízení.

Zdroj nosného plynu s regulátorem průtoku

Zdrojem nosného plynu je tlaková láhev. Volba nosného plynu závisí na typu kolony a na detektoru. Důležité pro vlastní analýzu jsou také parametry plynu, tj. cena, čistota (minimálně 99,99%), inertnost a viskozita [42].

Injektor

Nejdéle užívané zavádění vzorku do chromatografické kolony je pomocí vyhřívaného split/splitless injektoru. Tato technika je složena ze dvou módů; v obou módech je injektor nastaven na teplotu tak vysokou, aby došlo k odpaření vzorku [43; 44].

Další technikou nástřiku je nástřik s děličem toku (split), který je používán pro čisté vzorky. Nástřik probíhá tak, že vzorek je odpařen do proudu nosného plynu, ze kterého je malá část dopravena do kapilární kolony. Nejčastější rozsah poměrů rozdělování je od 10:1 do 400:1 [30].

Kolona

Kolona je část chromatografu, kde probíhá separace. V GC se používají kapilární nebo náplňové kolony. Náplňové kolony jsou ocelové nebo skleněné trubice o průměru 2 - 8 mm a délce 1- 5 m, stacionární fázi jsou adsorbent nebo kapalina vázaná na nosiči [31; 45].

V GC silně převažuje použití kapilárních kolon nad náplňovými. Nejpoužívanějšími kolonami jsou kapilární kolony se zakotvenou stacionární fází na vnitřní stěně. Kapilární kolony jsou vyrobeny z křemenu pokrytého polyimidem, který zvyšuje mechanickou pevnost.

Vnitřní průměr kapilárních kolon se pohybuje od 0,10 do 0,53 mm, obvyklá délka kapilárních kolon je 30 m, ale může dosahovat až 150 m. Stacionární fáze je tenká vrstvička na vnitřní stěně kapilární kolony [31; 45].

Podmínka transportu vzorku kolonou je okamžitá přeměna vzorku na plyn. V chromatografické koloně se složky vzorku separují na základě různé schopnosti poutat se na stacionární fázi [40].

Detektor

Jakmile analyt opustí chromatografickou kolonu, je hnán nosným plynem do detektoru. Složky opouštějící kolonu indikuje detektor jako signál, který se následně vyhodnocuje; výstupem je chromatogram obsahující píky. Z časového průběhu intenzity signálu je určeno kvalitativní a kvantitativní zastoupení složek vzorku [40]. Nutností je rovněž mít standardy sledovaných analytů.

Plynová chromatografie jako detektor často používá hmotnostně-spektrometrický detektor (MS). Další možnosti analytických koncovek jsou detektor tepelné vodivosti, plameno-ionizační detektor, plameno-fotometrický detektor a detektor elektronového zachytu [31].

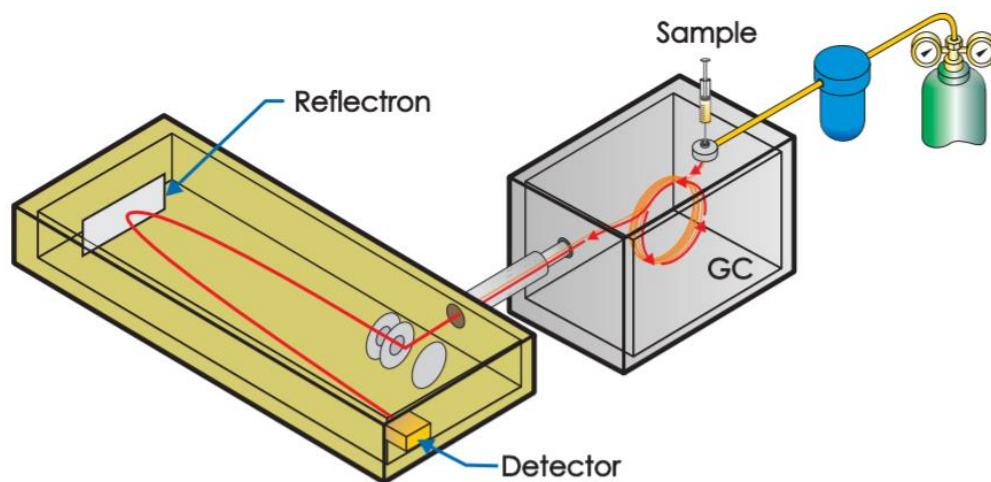
Vyhodnocovacím a výstupním zařízením je počítač, vybavený „ChemStation“, který je vybavený vhodným programem umožňujícím zaznamenávání signálu detektoru. Signál je převáděn do formy chromatogramu, znázorňujícímu závislost signálu na čase [34].

2.6.3 Průletový analyzátor (TOF)

Průletový analyzátor TOF (time of flight), nám umožňuje stanovit m/z iontu z doby letu. Základním prvkem TOF je evakuovaná letová trubice [46].

Princip průletového analyzátoru můžeme shrnout do následujících bodů [46]:

- Pulzní ionizace
- Urychlení iontů v elektrickém poli zdroje
- Separace iontů podle m/z
- Detekce iontů



Obrázek 5.: Schéma TOF v zapojení s GC [47]

Shluk iontů je urychlen krátkým pulzem v elektrickém poli. Ionty postupují driftovou zónou a je měřena doba letu. Doba letu je doba, kterou ionty urazí od startu k detektoru. Z doby letu je následně určen poměr m/z [46].

Důležitým prvkem v průletovém analyzátoru je **reflekton**. Reflekton je elektrostatické zrcadlo, které ionty v letové trubici obrací a posílá je opačným směrem. Reflekton je umístěn na konci letové trubice a využívá se ke zvýšení rozlišení průletového analyzátoru [46].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie, standardy, přístroje a pomůcky

Chemikálie

- Aceton pro plynovou chromatografii, Merck, Německo
- cyklohexan, Fluka Analytical
- Aceton pro GC, Merck, Německo
- NaCl (99,0-100%), SIGMA-ALDRICH, USA
- He, helium, 6.0

Standardy

1. Musk Ketone solution in acetonitrile (100 µg/ml), SIGMA-ALDRICH, USA
2. Musk Xylen solution in acetonitrile (100 µg/ml), SIGMA-ALDRICH, USA
3. Tonalid (≥97.0%), SIGMA-ALDRICH, USA
4. Galaxolid (100%), SIGMA-ALDRICH, USA
5. Ethylen Brassylát, (1000 mg/ml v cyklohexanu), SAFC, SIGMA-ALDRICH, USA
6. Musk MC4 (100 mg/ml v cyklohexanu), Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Německo
7. Exaltolid (100 mg/ml v cyklohexanu), Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Německo
8. Habanolid (100 mg/ml v cyklohexanu), Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Německo
9. Ambrettolid (100 mg/ml v cyklohexanu), Dr. Ehrenstorfer GmbH, Augsburg, Německo
10. D-limonen (100%), SIGMA-ALDRICH, USA
11. Linalool (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
12. Citronelol (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
13. Arocet (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
14. Hexylcinnamicaldehyd (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
15. Isobornyl acetát (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
16. Allyl cyklohexyl propionát (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
17. Fresco menthe (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
18. Lilial (100%), AROMA Praha, a.s., ČR
19. Arofloron (100%), AROMA Praha, a.s., ČR

Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy (KERN 770)
- Mikropipety (Biohit)
- Míchačka (Nüve, MK 418)
- Teploměr rtuťový (100 °C)
- Hmotnostní spektrometr Pegasus IVD, (Leco, USA)
- Plynový chromatograf Agilent 6890 N (Agilent, USA)

SPME:

- Držák pro SPME
- modré SPME vlákno:

- červené SPME vlákno:
- šedé SPME vlákno:

3.2 Pracovní postup

3.2.1 Příprava roztoků pro optimalizaci metody SPME

Byli vybráni zástupci všech čtyř skupin musk sloučenin. Zástupci lineárních musk sloučenin (č. 11.-19.) jsou výrobky české společnosti Aroma Praha, a.s., kromě D-limonenu (č. 10.), který je výrobkem Sigma-Aldrich. Zástupci (č. 6.-9.) ze skupiny makrocyclických sloučenin jsou výrobky německé společnosti Dr. Ehrenstorfer GmbH, Ethylen brassylát (č.5) je výrobek americké společnosti Sigma-Aldrich. Standardy skupin polycyclických musk (č. 3.-4.) a nitromusk (č. 1.-2.) jsou výrobky Sigma-Aldrich.

Tabulka 7.: Koncentrace analytů v zásobním roztoku 1A, 1B, 1C, 1D, a r. č. 2

č.	musk	roztok	koncentrace	roztok	koncentrace
1.	Musk Ketone	1A	100 µg/ml	2	1 µg/ml
2.	Musk Xylene		100 µg/ml		
3.	Tonalid	1B	1 mg/ml		
4.	Galaxolid		1 mg/ml		
5.	Et. Brassylát	1C	1 mg/ml		
6.	Musk MC4		1 mg/ml		
7.	Exaltolid		1 mg/ml		
8.	Habanolid		1 mg/ml		
9.	Ambrettolid		1 mg/ml		
10.	D-limonen	1D	1 mg/ml		
11.	Linalool		1 mg/ml		
12.	Citronelol		1 mg/ml		
13.	Arocet		1 mg/ml		
14.	Hexylcinnamicaldehyd		1 mg/ml		
15.	Isobornyl acetát		1 mg/ml		
16.	Allyl cyklohexyl propionát		1 mg/ml		
17.	Fresco Menthe		1 mg/ml		
18.	Lilial		1 mg/ml		
19.	Arofloron		1 mg/ml		

Byla připravena jedna sada roztoků z každé skupiny musk látek, kromě nitromusk sloučenin (1A), které byly dodány v koncentraci 100 µg/ml. Roztoky 1B, 1C a 1D byly připraveny o koncentraci $c = 1 \text{ mg/ml}$, pipetováním příslušného množství standardu; jako rozpouštědlo byl použit aceton.

Pipetováním 10 µl roztoků 1B, 1C, 1D, 100 µl standardu musk ketonu a 100 µl standardu musk xylenu, do 10 ml odměrné baňky, byl připraven směsný roztok (č. 2). Rozpouštědlo u roztoku č. 2 byl aceton.

3.2.2 Výběr vhodných parametrů pro GC/MS-TOF

3.2.2.1 Příprava směsi standardů

Směs standardů byla připravena odpipetováním 100 μ l roztoku č. 2 uvedeného v tabulce č. 7 a 900 μ l hexanu do vialky (1 ml). Tato směs byla použita k proměření retenčních časů jednotlivých musk sloučenin a k nastavení vhodného teplotního programu GC.

3.2.2.2 Změření retenčních charakteristik a charakteristických m/z zvolených analytů

Stanovení musk sloučenin bylo prováděno na plynovém chromatografu GC Agilent 6890 N (Agilent Technologies); nosným plynem bylo He (6.0) a pro analýzu byla použita kapilární kolona RxiTM-5ms [28,110 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m].

Pro měření byl použit hmotnostní detektor Pegasus IVD (Leco), který je vybaven průletovým analyzátozem (Time of Flight, TOF).

Směs standardů byla převedena do vialky a na kolonu byla dávkována pomocí automatického dávkovače vzorků. Vlákná SPME byla při nástřiku umísťována do GC manuálně.

Retenční charakteristiky jednotlivých musk sloučenin byly zjišťovány změřením směsného roztoku standardů. Roztok byl nadávkován kapalným nástřikem do plynového chromatografu. Tato analýza nám umožnila získat retenční časy a hmotnostní spektra analytů. Z hmotnostních spekter byly určeny charakteristické m/z (kvalifikační a konfirmační ion).

Tabulka 8.: Podmínky plynového chromatografu

Kolona	Rxi TM -5ms [28,110 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m]
Nástřik	1 μ l
Nosný plyn	He 6.0
Injektor	Splitless
Teplota injektoru	280 °C
Průtok nosného plynu	1 ml/min
Nastavení průtoku	konstantní
Teplota transfer line	280 °C

Tabulka 9: Podmínky hmotnostního spektrometru

Rozsah m/z	30 - 500
Rychlost sběru dat	15 spekter/s
Napětí na detektoru	1800 V
Teplota iontového zdroje	250 °C

3.2.2.3 Optimalizace teplotního programu

Základní nastavení plynového chromatografu bylo provedeno v souladu s již předem optimalizovanými podmínkami prezentovanými v literatuře. Pro další analýzu bylo zapotřebí podmínky optimalizovat.

Základní teplotní program:

Tabulka 10: Základní teplotní program

Teplotní krok (°C/min)	Teplota °C	Držení (min)
-	40	1
5	150	-
30	200	-
20	280	2

3.2.3 Optimalizace SPME

Cílem optimalizace metody SPME bylo stanovení parametrů, které by mohly být použity na analýzu reálných vzorků obsahující musk sloučeniny všech skupin vedle sebe. Princip optimalizace byl proveden následovně: analyzováno bylo vždy 14 ml destilované vody se vždy stejným přídatkem standardu (10 µl roztoku č. 2). Změna se postupně uskutečnila pouze u teploty, doby sorpce a typu vlákna. S každým vláknem byla provedena analýza rovnovážné plynné fáze nad vzorkem (HS, head-space).

3.2.3.1 Výchozí podmínky SPME

Při optimalizaci SPME se vycházelo z podmínek ověřených v již obhájené diplomové práci [26], zabývající se stanovením musk sloučenin v odpadních vodách metodou SPME.

Tabulka 11: Výchozí podmínky SPME

Typ vlákna	PDMS/DVB, 65 µm
Provedení	HS
Teplota sorpce	70 °C
Doba expozice vlákna	30 min
Doba ustálení rovnováhy	5 min
Objem vialky	42 ml
Objem vzorku	14 ml
Rychlost míchání	500 ot/min

3.2.3.2 Výběr vlákna

Bylo ověřováno použití tří vláken, která se od sebe lišila tloušťkou a typem stacionární fáze. Bylo zvoleno červené vlákno (PDMS, 100 µm), modré vlákno (PDMS/DVB, 65 µm) a šedé vlákno (DVB/CAR/PDMS, 50/30 µm). Následovalo zvolení vlákna s nejlepšími

předpoklady k sorpci směsi všech musk sloučenin při HS sorpci. Pro každé vlákno byla testována teplota 40, 50, 60, 70° C při době sorpce 30 min. Syntetické vonné látky mají charakter semivolatilních látek, a proto sorpce na vlákna probíhala z rovnovážné plynné fáze umístěné nad vzorkem v uzavřené vialce.

Následně byla vybrána optimální teplota sorpce, společně s nejvhodnějším vláknem. S tímto vláknem a vybranou teplotou byla testována doba sorpce 10, 20, 30, 40, 50 min.

S nejvhodnějším vláknem, optimální teplotou a časem sorpce byla provedena metoda přímého ponoření a vliv vysolování s 20-25 hm. % NaCl.

Tabulka 12: Pracovní podmínky vláken

Vlákno	Barva	Tloušťka	pH	Maximální teplota (°C)	Doporučená pracovní teplota (°C)
PDMS	červené	100 µm	2-10	280	200-280
PDMS/DVB	modré	65 µm	2-11	270	200-270
DVB/CAR/PDMS	šedé	50/30 µm	2-11	270	230-270

3.2.3.3 Aktivace vláken

Před optimalizací bylo zapotřebí nová vlákna aktivovat. Aktivace vlákna byla provedena v plynovém chromatografu vyhřátém na teplotu udanou výrobcem vlákna.

Tabulka 13: Parametry aktivace vláken

Vlákno	Barva	Tloušťka	Doba aktivace (min)	Teplota aktivace (°C)
PDMS	červené	100 µm	30	250
PDMS/DVB	modré	65 µm	30	250
DVB/CAR/PDMS	šedé	50/30 µm	30	270

3.2.4 Identifikace

Identifikace analytů probíhala v první fázi zjištěním retenčních časů a hmotnostních spekter z roztoku standardu. Na základě kvantifikačních iontů a retenčního času byly potom identifikovány jednotlivé analyty obsažené ve standardu.

3.2.5 Testování optimalizované metody na reálném vzorku vody

Do skleněné vzorkovnice byl odebrán vzorek říční vody, vzorkovnice byla naplněna až po okraj. Do dvou vialek (42 ml) bylo kvantitativně přeneseno 14 ml reálné vody; první vialka zůstala bez přídavku, do druhé z vialek bylo napipetováno 10 µl roztoku č. 2. Byla provedena sorpce na šedé vlákno (HS), při době sorpce 30 min a při teplotě 60° C.

Metoda standartního přídavku:

Vzorek s přidavkem měl vyšší odezvy proti vzorku bez přidavku. Rozdíly mezi odezvami obou vzorků vedou ke zjištění koncentrace analytu ve vzorku. Výpočet byl proveden dle vzorce (4) [26].

$$c = \frac{A_i \cdot c_s \cdot V_s}{A_{isp} \cdot (V_i + V_s) - (A_i \cdot V_i)} \quad (4)$$

A_i ... plocha píku bez přidavku standardu

c ... neznámá koncentrace analytu ve vzorku

c_s ... koncentrace standardu

V_s ... objem přidaného standardu (ng/ml)

A_{isp} ... plocha píku s přidavkem standardu

V_i ... objem vzorku (ml)

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Optimalizace teplotního programu

Tabulka 14: Základní teplotní program TP1

Teplotní krok (°C/min)	Teplota °C	Držení (min)
-	40	1
5	150	-
30	200	-
20	280	2
Doba analýzy (min)		30,66

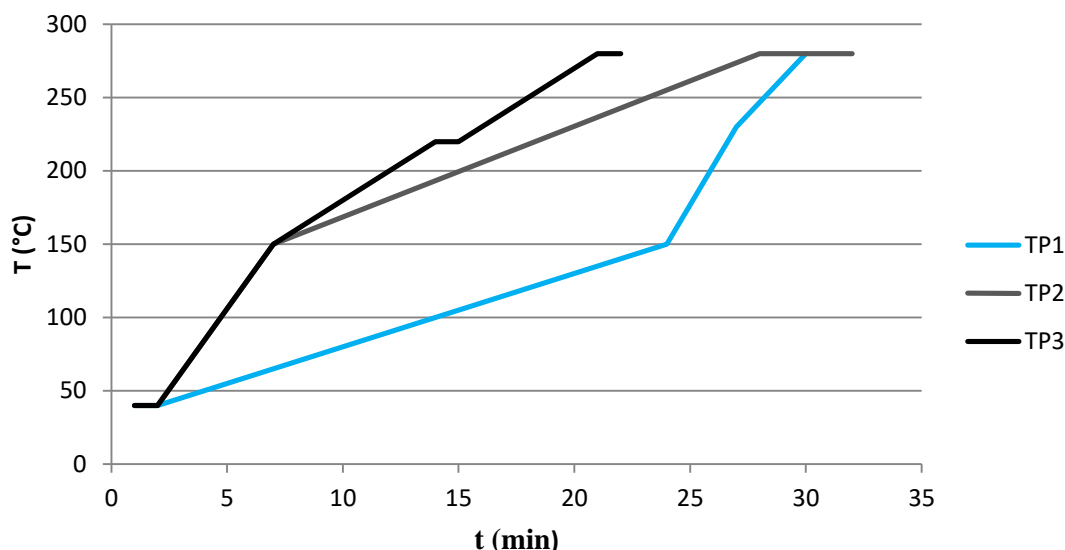
Tabulka 15: Teplotní program TP2

Teplotní krok (°C/min)	Teplota °C	Držení (min)
-	40	1
25	150	-
10	200	-
5	280	5
Doba analýzy (min)		31,40

Poslední uvedený teplotní program (TP3) byl zvolen jako výchozí pro proměření standardů a pro optimalizaci SPME.

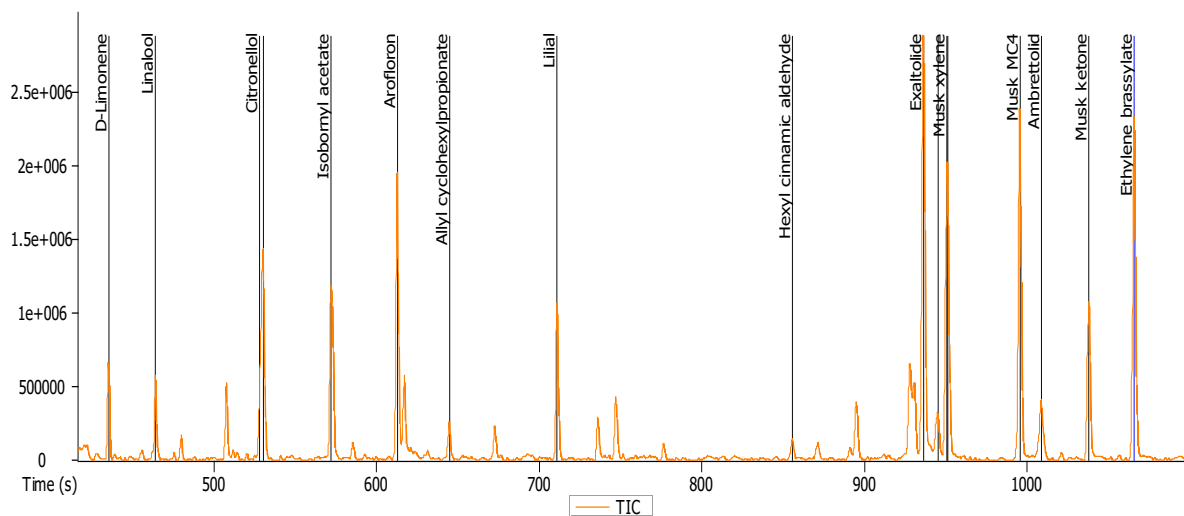
Tabulka 16: Teplotní program TP3

Teplotní krok (°C/min)	Teplota °C	Držení (min)
-	40	1
25	150	-
10	220	2
10	280	1
Doba analýzy (min)		21,40



Graf 1.: Závislost teplot na čase u jednotlivých teplotních programů

Z posouzení teplotních programů vyplynulo, že program TP3 je nejvhodnější. Po provedení analýzy při tomto teplotním programu došlo k rozlišení Musk xyleny a Tonalidu. Bylo také dosaženo lepších tvarů píků u makrocyclických musk, které u předchozích teplotních programů nebyly dobře rozeznatelné.



Obrázek 6.: Chromatogram směsného standardu při kapalném nástřiku a TP3

Chromatogram uvedený na obr. č. 6 zobrazuje píky jednotlivých standardů. Z chromatogramu byly odečteny retenční časy jednotlivých sloučenin, které jsou následně prezentovány v tabulce č. 17.

Tabulka 17.: Charakteristiky jednotlivých standardů

Analyt	Retenční čas (s)	Kvantifikační iont (m/z)	Konfirmační ionty (m/z)
D-Limonene	435,12	68	93, 67, 79
Linalool	464,02	71	93, 55, 43
Citronellol	527,89	82	69, 41, 67
Fresco menthe	530,15	98	55, 41, 83
Isobornyl acetate	572,04	93	95, 43, 121
Arofloron	612,74	98	71, 43, 55
Allyl cyclohexyl propionate	644,71	100	95, 55, 121
Lilial	711,04	189	189, 147, 131
Hexyl cinnamic aldehyde	855,56	129	117, 91, 216
Exaltolide	936,41	55	41, 69, 43
Galaxolide	945,07	243	213, 258, 228
Musk xylene	950,60	282	43, 57, 77
Tonalid	951,40	243	43, 258, 159
Musk MC4	995,62	98	213, 86, 41
Ambrettolid	1008,61	82	67, 81, 55
Musk ketone	1038,11	279	43, 128, 294
Ethylene brassylate	1066,02	98	55, 41, 86

4.2 Optimalizace SPME

4.2.1 Aktivace vláken

Před prvním použitím vlákna je nutné je aktivovat. Aktivace je proces, kdy se vlákno upevněné v držáku vsune do plynového chromatografu vyhřátého na výrobcem danou teplotu a setrvá tam daný čas. Aktivace všech vláken proběhla je uvedena v tabulce č. 12.

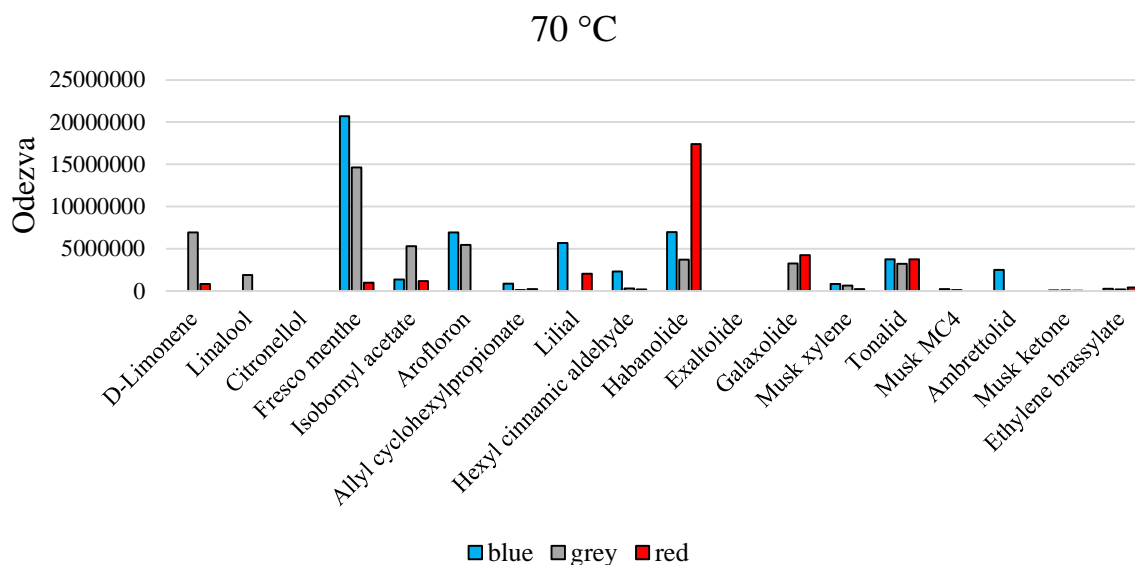
Tabulka 18: parametry aktivace vláken

Vlákno	Barva	Tloušťka	Doba aktivace (min)	Teplota aktivace (°C)
PDMS	červené	100 µm	30	250
PDMS/DVB	modré	65 µm	30	250
DVB/CAR/PDMS	šedé	50/30 µm	30	270

4.2.2 Vliv teploty na sorpci

Byla proměřena všechna vlákna při teplotách 40, 50, 60 a 70° C za účelem zjistit optimální teplotu sorpce. Zároveň bylo přihlíženo k ostatním výsledkům zjištěným u jednotlivých vláken.

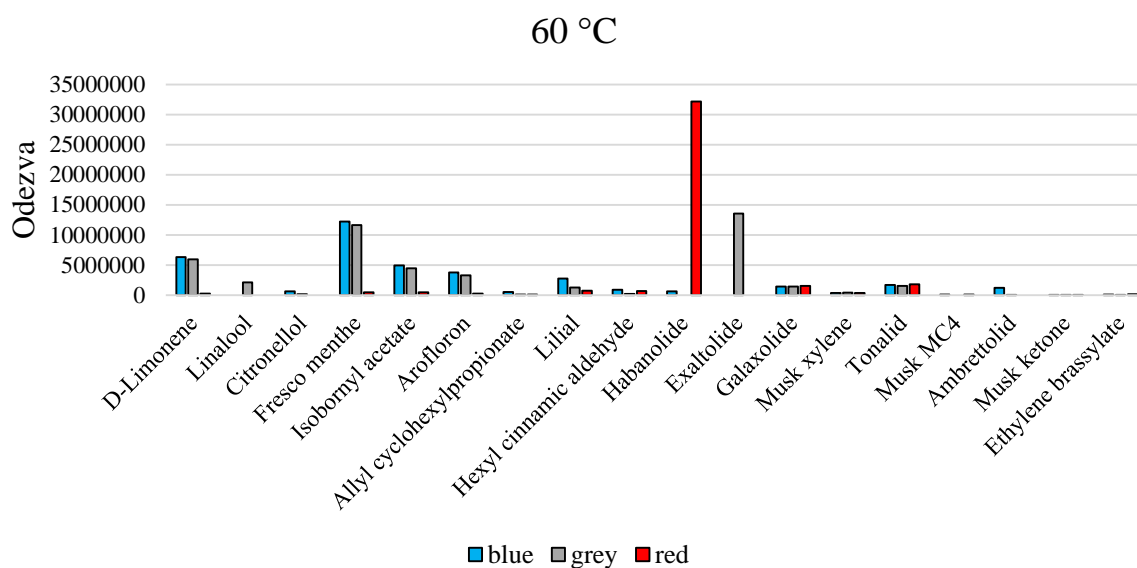
Z grafu uvedeného níže vyplývá, že některé analyty ukazovaly vysokou odezvu při 70° C. Některé analyty při této teplotě nebyly vůbec detekovány; jedná se o Exaltolide a Citronellol. Proto byla zvolena jako výchozí teplota 60° C.



Obrázek 7: Míra odezvy vláken při teplotě sorpce 70° C

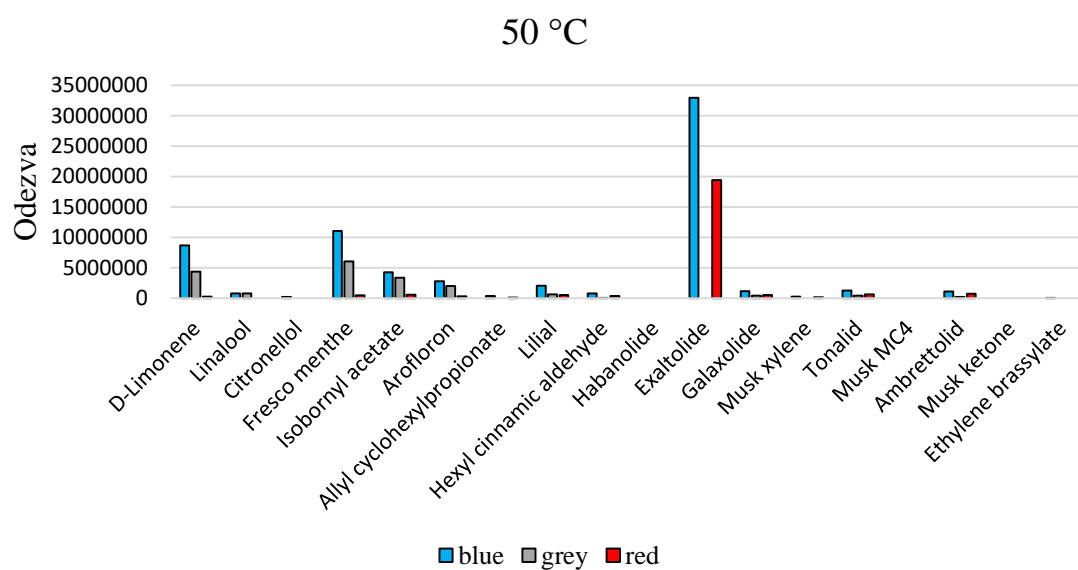
Následující graf zobrazuje sorpci vláken při teplotě 60° C a době sorpce 30 min. Z tohoto grafu je patrné, že červené vlákno je pro komplexní analýzu nevhodné a proto bylo zapotřebí se rozhodnout mezi modrým a šedým vláknem. Při analýze prostřednictvím jak modrého, tak šedého vlákna nebyly identifikovány dva analyty. U šedého vlákna nebyl detekován Habanolid a Musk MC4. U modrého vlákna nebyl identifikován Linalool a Exaltolid. Pro další sorpce bylo vybráno šedé vlákno, a to i přes to, že analyty vykazovaly nižší odezvy než u vlákna modrého. Důvodem tohoto výběru bylo, že bylo zapotřebí použít vlákno, které by umožňovalo identifikaci všech stanovovaných analytů. Šedé vlákno je složeno ze tří fází, a proto je pravděpodobné, že bude sorbovat látky mající různorodé chemické vlastnosti.

V případě stanovení směsi musk ze skupiny lineárních musk látek by bylo vhodnější vybrat vlákno modré.

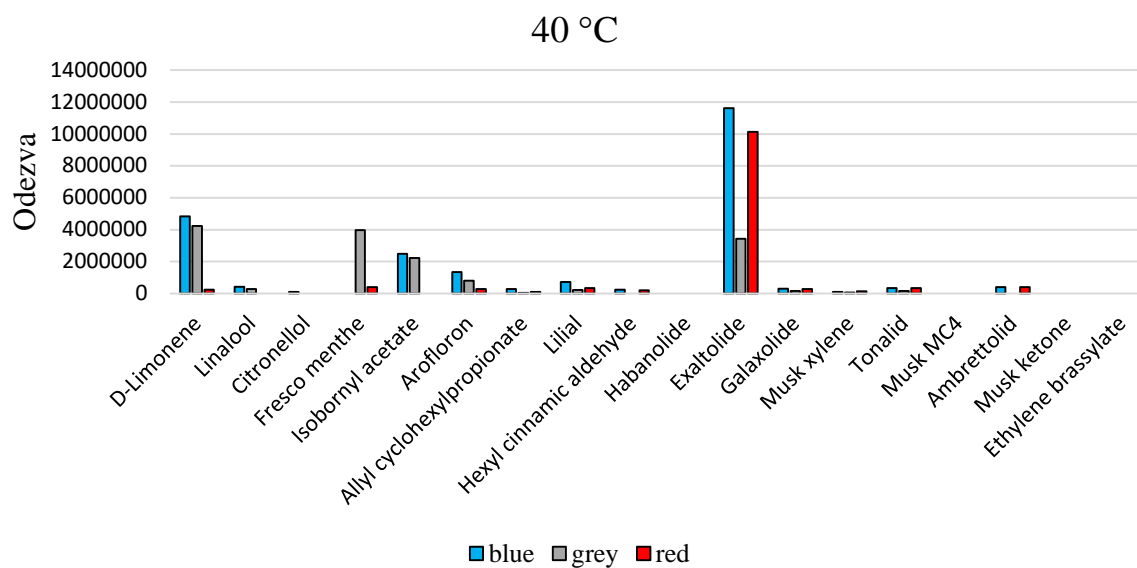


Obrázek 8: Mira odezvy vláken při teplotě sorpce 60° C

Sorpce prováděné při 40° a 50° C neměly tak vysoké odezvy jako v případě použití sorpce při předchozích vyšších teplotách. To je patrné z následujících dvou grafů. Zdroje uvádějí, že účinnost SPME s rostoucí teplotou roste [48].



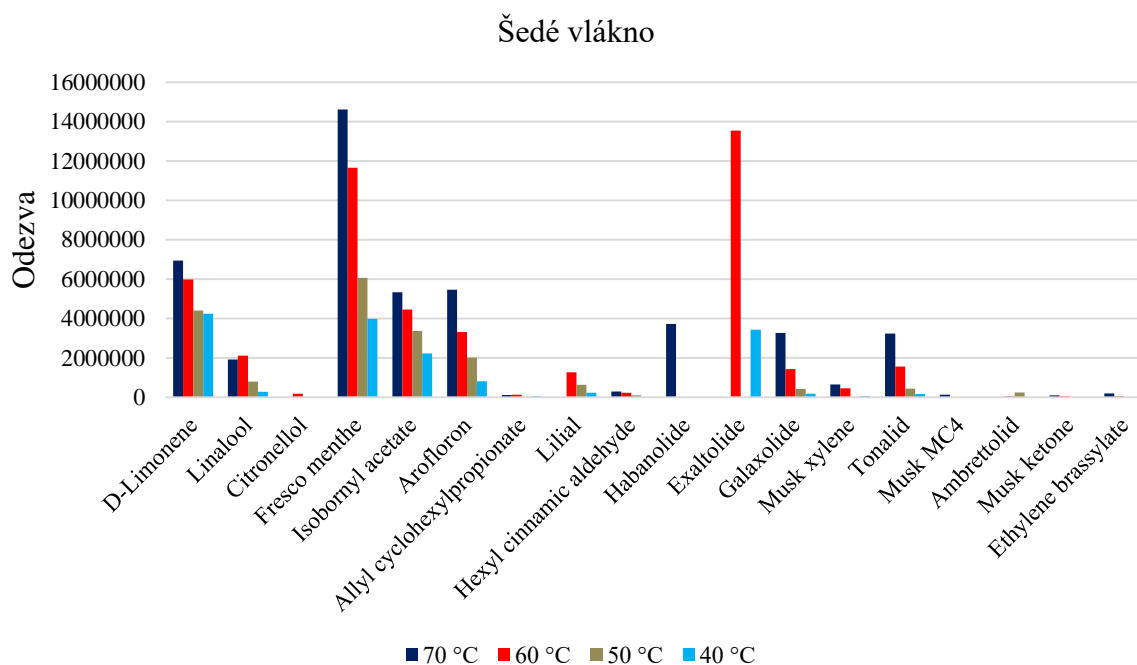
Obrázek 9: Mira odezvy vláken při teplotě sorpce 50° C



Obrázek 10: Mira odezvy vláken při teplotě sorpce 40° C

4.2.3 Výběr typu vlákna

Na základě ověření všech sorpčních vlastností bylo vybráno šedé vlákno, přičemž teplota sorpce byla 60° C, viz odstavec 4.2.2.

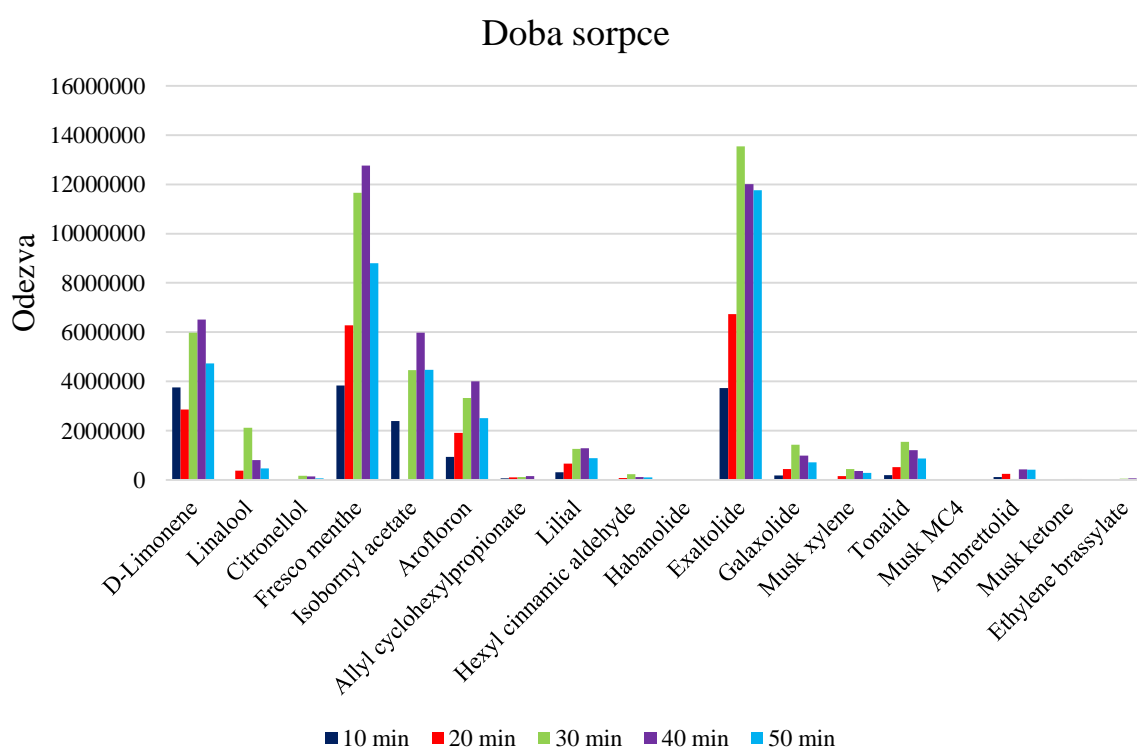


Obrázek 11: Vliv teploty sorpce na šedém vlákne

4.2.4 Doba sorpce

Doba sorpce byla zvolena z hlediska posouzení míry odezvy jednotlivých analytů a také podle počtu identifikovaných analytů. Rovněž bylo přihlíženo k velikosti odezvy v rámci skupin sledovaných analytů.

Z grafu vyplývá, že dvě doby sorpce s nejvyššími odezvami jsou 30 min a 40 min. Většina lineárních musk sloučenin měla vyšší odezvy při 40 min; nakonec však byla zvolena doba sorpce 30 min, a to z důvodu vyšších odezev a vyšší detekovatelnosti Exaltolidu, Galaxolidu, Musk xylenu, Tonalidu, Linaloolu a Citronelolu. Zvolení doby sorpce 30 min se ukázalo být lepší při analýze všech čtyřech skupin musk sloučenin. Pokud by však probíhala analýza pouze směsi lineárních musk sloučenin, případně makrocyclických musk sloučenin, jako samostatných skupin, bylo by vhodnější zvolit dobu sorpce 40 min.



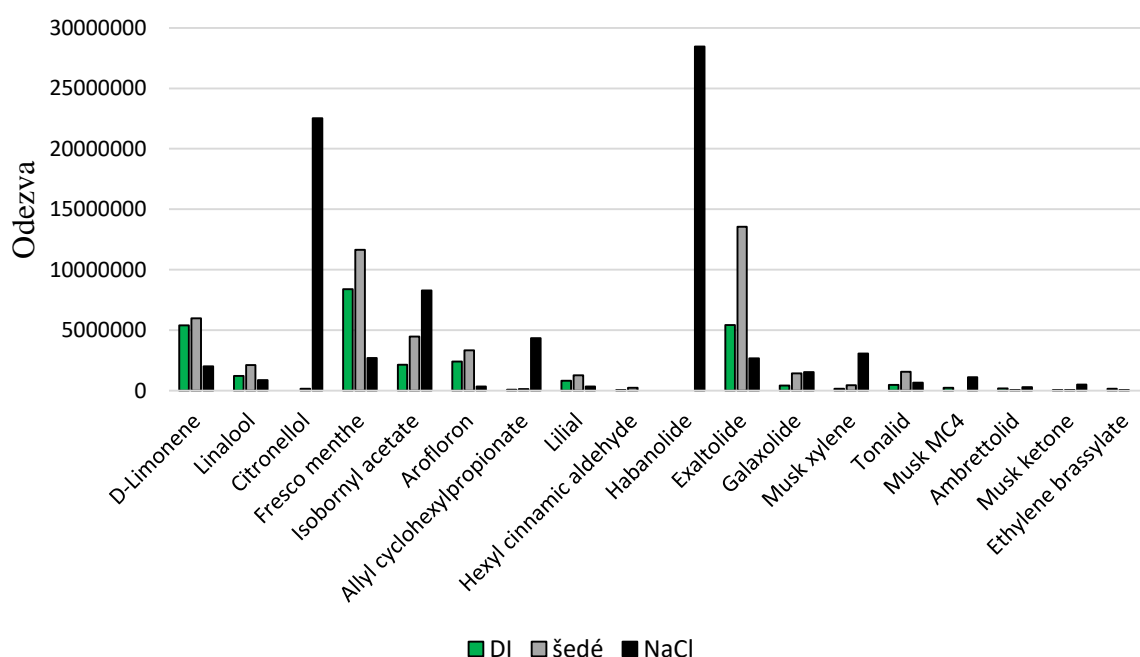
Obrázek 12: Závislost doby sorpce na odezvě jednotlivých analytů (šedé vlákno)

4.2.5 Vliv vysolování a přímé ponoření

K izolování jednotlivých analytů z matrice je možné použít buď sorpci z rovnovážné plynné fáze nad vzorkem (HS, head-space) nebo sorpci přímým ponořením SPME vlákna do roztoku (DI, direct immersing). V dříve obhájovaných diplomových pracích [26; 48] bylo také uvedeno, že sorpce probíhá lépe při přidavku soli k roztoku. U vybraného vlákna, teploty a doby sorpce byl proto testován vliv vysolování a testována sorpce přímým ponořením vlákna do roztoku.

Proto byla porovnána sorpce (HS) na šedém vlákne a při stejných podmínkách rovněž sorpce s přidavkem 20-25 hm. % NaCl. Vliv vysolování na zvýšení odezvy se projevil u Citronelollu, Isobornyl acetátu, Habanolidu a Musk xylenu. Rovněž byl prokázán výrazný pokles odezvy v porovnání se sorpcí bez vlivu vysolování u D-limonenu, Fresco menthe, Arofloronu, Lilialu, Exaltolidu. Z prezentovaného grafu vyplývá, že vliv soli při analýze všech skupin musk sloučenin nezvyšuje signifikantně odezvu u všech analytů. U některých odezvu dokonce snižuje, a proto nebyl zahrnut do optimalizované metody.

Z grafu také vyplývá, že metoda přímého ponoření nezvyšuje odezvy u žádného analytu, což může být způsobeno mírou polariry analytů, které jsou pipetovány do vody. Metoda přímého ponoření také nebyla zahrnuta do výsledné optimalizované metody.



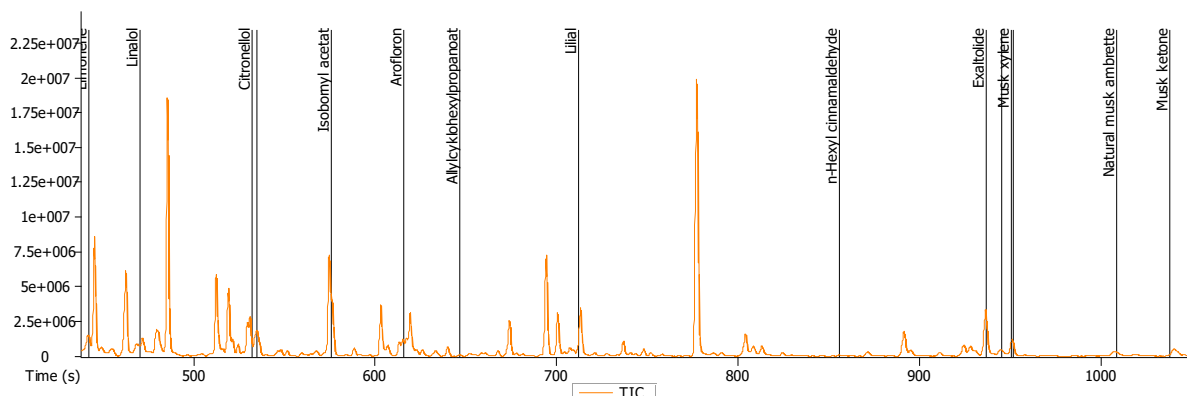
Obrázek 13: Porovnání míry odezvy šedého vlákna s metodou přímého ponoření a vlivem vysolování

4.2.6 Optimalizovaná metoda SPME

Výsledná optimalizovaná metoda SPME pro všechny typy syntetizovaných musk sloučenin je prezentována v tabulce č.19, kde 19 jsou uvedeny všechny potřebné parametry.

Tabulka 19: Parametry optimalizované metody SPME

Typ vlákna	DVB/CAR/PDMS, (50/30 µm), šedé vlákno
Provedení	HS
Teplota sorpce	60° C
Doba expozice vlákna	30 min
Objem vialky	42 ml
Objem vzorku	14 ml
Rychlost míchání	400 ot/min



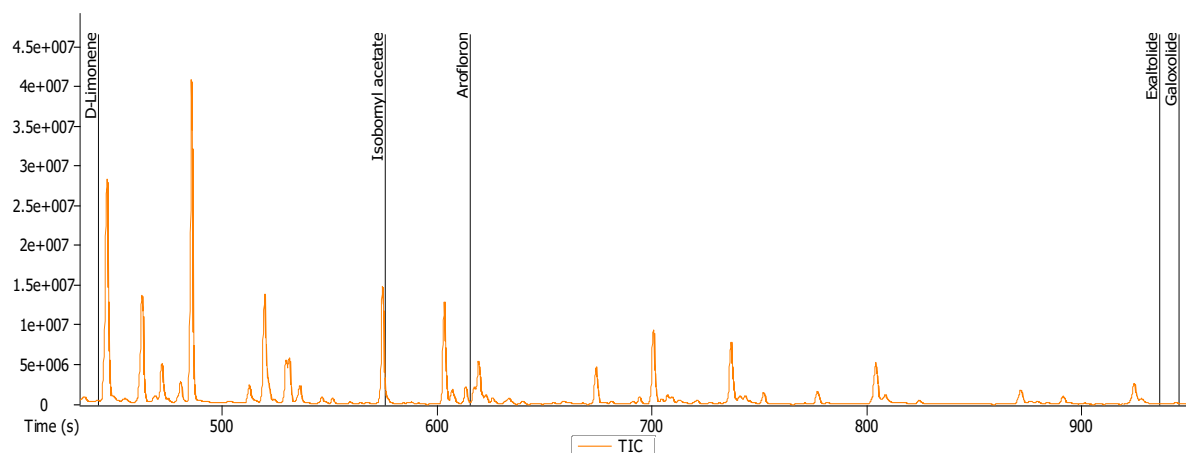
Obrázek 14: Chromatogram směsného standardu při použití optimalizované metody SPME a při teplotním programu TP3

4.2.7 Testování optimalizované metody na reálném vzorku vody

V testovaném vzorku bylo prokázáno pět sledovaných analytů, a to D-limonen, isobornyl acetát, arofloron, exaltolid a galaxolid. Byla vypočtena jejich koncentrace v ng/ml.

Tabulka 20: Analyty detekované v reálném vzorku

Název analytu	A_i	A_{isp}	Vypočtená koncentrace (ng/ml)
D-limonen	462 608	4 538 763	0,0810
Isobornyl acetát	282 626	3 512 380	0,0625
arofloron	120 606	2 292 374	0,0396
exaltolid	235 601	12 065 950	0,0142
galaxolid	37 530	862 630	0,0325



Obrázek 15: Chromatogram analytů nalezených v reálném vzorku

5 ZÁVĚR

Předložená bakalářská práce byla zaměřena na optimalizaci metody SPME pro analýzu směsi všech skupin syntetických vonných látek. V rámci bakalářské práce bylo testováno devatenáct musk sloučenin. Ze skupiny nitromusk sloučenin se jednalo o musk ketone a musk xylen, ze skupiny polycyklických musk byly vybrány dva zástupci, tonalid a galaxolid, ze skupiny makrocyclických musk ethylen brassylát, musk MC4, exaltolid, habanolid a ambrettolid. Nejvíce zástupců bylo zvoleno ze skupiny lineárních musk sloučenin, celkem deset, a to D-limonene, linalool, citronellol, arocet, hexylcinnamic aldehyd, allylcyklohexylpropionát, fresco menthe, isobornyl acetát, lilial a arofloron.

V první fázi experimentální práce byl zvolen optimální teplotní program pro plynovou chromatografii s hmotnostní detekcí (GC/MS-TOF). V druhé fázi proběhla optimalizace metody SPME. Nejprve byla provedena aktivace vláken, následně byl zvolen vhodný typ vlákna, teplota a čas sorpce. Ve třetí fázi byl ověřován vliv vysolování a metoda přímého ponoření u vybraného vlákna. Z dosažených výsledků vyplynulo, že nejvhodnější parametry SPME pro stanovení jednotlivých analytů obsažených ve směsi musk sloučenin byly následující: sorpce na šedé vlákno prováděná při teplotě 60° C a době sorpce 30 min. Výsledkem této bakalářské práce je optimalizovaná metoda mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí, která je použitelná i pro stanovení těchto analytů v reálných vzorcích vody.

LITERATURA

- [1] ROSYPAL, Stanislav. *Nový přehled biologie*. 1. vyd. Praha: Scientia, 2003. ISBN 8071832685.
- [2] JELÍNEK, Jan a Vladimír ZICHÁČEK. *Biologie pro gymnázia: (teoretická a praktická část)*. 9. vyd. Olomouc: Nakladatelství Olomouc, 2007, 575 s., [92] s. barev. obr. příl. : il., mapy, por. ISBN 9788071822134.
- [3] TREPKOVÁ, Emilie a František VONÁŠEK. *Vůně a parfémy: tajemství přitažlivosti*. Praha: Maxdorf, 1997, 173 s. ISBN 8085800489.
- [4] MARTINKOVÁ, Miroslava. *Kozmetická chemia* [online]. In: . b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://kekule.science.upjs.sk/chemia/kuch/CHBZ3.html>
- [5] JIRÁT, Emil. *Látky vonné a chuťové: učeno stř. techn. a inž. pracovníkům potravní, farmaceutického a chem. průmyslu a jako učeb. pomůcka pro žáky prům. škol a záv. školy práce ; Emil Jirát a kol.* 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1964. Řada potravinářské literatury. ISBN 04-843-64.
- [6] ROZSÍVALOVÁ, Věra, Věnceslava JADRNÍČKOVÁ, Ilona PERSUNOVÁ a Ivana PLZÁKOVÁ. *Kosmetika I: Pro 1. ročník oboru Kosmetička*. 1. vyd. Praha: INFORMATORIUM, 2000, 143 s. ISBN 8086073718.
- [7] VONDRUŠKA, Vlastimil. *Intimní historie: od antiky po baroko*. 1. MOBA (Moravská Bastei), 2007, 238 s. ISBN 978-80-243-2672-6.
- [8] History of perfume. *Tailor made fragrance* [online]. 2018 [cit. 2018-05-06]. Dostupné z: https://www.tailormadefragrance.com/en_int/history_of_perfume
- [9] *The joy of dirt: Why cleanliness may be going out of fashion* [online]. In: . b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <https://www.economist.com/node/15108662>
- [10] *The History Behind Eau de Cologne* [online]. In: . b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://www.cologneboutique.com/the-history-behind-eau-de-cologne/>
- [11] WYNBERG, Hans. The Reimer-Tiemann reaction. *Chemical Reviews* [online]. 1960, **60**(2), 169-184 [cit. 2018-05-08]. DOI: 10.1021/cr60204a003. ISSN 00092665. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/cr60204a003>
- [12] BORISOV, Sergey. *Natural and Synthetic Musk* [online]. b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <https://www.fragrantica.com/news/Natural-and-Synthetic-Musk-5243.html>
- [13] VODRÁŽKA, Zdeněk. *Biochemie*. 2. oprav. vyd. Praha: Academia, 1996, 191 s. ISBN 8020006001.
- [14] VALÍČEK, Pavel. *Technické a siličnaté rostliny*. 1. vyd. V Brně: Mendelova

zemědělská a lesnická univerzita, 2006. ISBN 807157936X.

- [15] ČERVENÝ, Libor. Syntetické vonné a chuťové látky. *Chemické listy*. Praha, 1999, **1999**(93), 412-420. ISSN 1213-7103.
- [16] LIU, Jingjiang a Guilin DUAN. Common structural characteristics of musk odorant molecules. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM* [online]. Elsevier B.V, 1998, **432**(2), 97-103 [cit. 2018-05-02]. DOI: 10.1016/S0166-1280(97)00385-0. ISSN 0166-1280. Dostupné z: [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(97\)00385-0](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(97)00385-0)
- [17] KOMÁRKOVÁ, Petra. *Posouzení kontaminace biotických a abiotických složek vodního ekosystému lineárními musk sloučeninami*. Brno, 2015. Disertační práce. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Vedoucí práce Prof. Milada Vávrová.
- [18] SCHRAMM, K.-W., A. KAUNE, B. BECK, W. THUMM, A. BEHECHTI, A. KETTRUP a P. NICKOLOVA. Acute toxicities of five nitromusk compounds in *Daphnia*, algae and photoluminescent bacteria. *Water Research* [online]. Elsevier Ltd, 1996, **30**(10), 2247-2250 [cit. 2018-02-20]. DOI: 10.1016/0043-1354(96)00101-7. ISSN 0043-1354. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/0043135496001017>
- [19] PECK, Aaron a Keri HORNBuckle. Synthetic musk fragrances in Lake Michigan. *Environmental science & technology* [online]. 2004, **38**(2), 367 [cit. 2018-02-09]. DOI: 10.1021/es034769y. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <https://pubs-acsc-org.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/abs/10.1021/es034769y>
- [20] ZOUHAR, Libor. *Studium průniku „musk“ sloučenin do abiotických a biotických složek vodních ekosystémů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická, 2013.
- [21] KIM, Sunghwan, Paul THIESSEN, Evan BOLTON et al. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Research* [online]. 2016, **44**(1), 1202-1213 [cit. 2018-05-08]. DOI: 10.1093/nar/gkv951. ISSN 0305-1048. Dostupné z: <https://academic.oup.com/nar/article-lookup/doi/10.1093/nar/gkv951>
- [22] VALLECILLOS, Laura, Eva POCURULL a Francesc BORRULL. Fully automated determination of macrocyclic musk fragrances in wastewater by microextraction by packed sorbents and large volume injection gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* [online]. Elsevier B.V, 2012, (1264), 87-94 [cit. 2018-02-09]. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.09.049. ISSN 0021-9673. Dostupné z: <https://www.sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0021967312014616>
- [23] VALLECILLOS, Laura, Eva POCURULL a Francesc BORRULL. Simple and automated method to determine macrocyclic musk fragrances in sewage sludge samples by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry.

- Journal of chromatography* [online]. Elsevier B.V, 2013, **1314**, 38-43 [cit. 2017-03-14]. ISSN 00219673.
- [24] EH, Marcus. New Alicyclic Musks: The Fourth Generation of Musk Odorants. *Chemistry & Biodiversity* [online]. Zürich: WILEY-VCH Verlag, 2004, **1**(12), 1975-1984 [cit. 2018-05-08]. DOI: 10.1002/cbdv.200490151. ISSN 1612-1872.
- [25] CABALLERO-DÍAZ, Encarnación, Bartolomé SIMONET a Miguel VALCÁRCEL. Microextraction by packed sorbents combined with surface-enhanced Raman spectroscopy for determination of musk ketone in river water. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* [online]. Berlin/Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, **405**(23), 7251-7257 [cit. 2018-02-07]. DOI: 10.1007/s00216-013-7185-6. ISSN 1618-2642. Dostupné z: EBSCO
- [26] ŠVESTKOVÁ, Tereza. *Stanovení lineárních syntetických vonných látek v abiotických a biotických matricích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická, 2014, 116 s. : il. Diplomová práce. Vysoké Učení Technické v Brně, Fakulta chemická.
- [27] DOHÁNYOS, Michal, Jan KOLLER a Nina STRNADOVÁ. *Čištění odpadních vod*. 2. vyd. Praha: VŠCHT, 1998, 177 s. ISBN 8070803169.
- [28] CHRISTIAN, Mildred, Robert PARKER, Alan HOBERMAN, Robert DIENER a Anne API. Developmental toxicity studies of four fragrances in rats. *Toxicology Letters* [online]. Elsevier Ireland Ltd, 1999, **111**(1), 169-174 [cit. 2018-03-09]. DOI: 10.1016/S0378-4274(99)00178-2. ISSN 0378-4274. Dostupné z: <https://www-sciencedirect-com.ezproxy.lib.vutbr.cz/science/article/pii/S0378427499001782>
- [29] SAFAROVA, V.I, S.V SAPELNIKOVA, E.V DJAZHENKO, G.I TEPLOVA, G.F SHAJDULINA a F.Kh KUDASHEVA. Gas chromatography–mass spectrometry with headspace for the analysis of volatile organic compounds in waste water. *Journal of Chromatography B* [online]. Elsevier B.V, 2004, **800**(1), 325-330 [cit. 2017-03-23]. DOI: 10.1016/j.jchromb.2003.10.070. ISSN 15700232.
- [30] ČÁSLAVSKÝ, Josef a Jiří ŠEVČÍK. *Analýza organických látek: učební text projektu "Příprava kurzů a učebních textů v oboru vzorkování a chemické analýzy" : modul K02-2014*. 1. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2014. Analytical standards and equipment. ISBN 9788026070856.
- [31] HELÁN, Václav, ed. *Analýza organických látek: sborník přednášek z kurzu*. 2., upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 Theta, 2005. ISBN 8086380297.
- [32] GUARDIA, Miguel, ed. a Salvador GARRIGUES MATEO, ed. *Handbook of green analytical chemistry*. 1st pub. Chichester: Wiley, 2012. ISBN 9780470972014.
- [33] HIGASHIKAWA, Fábio, Maria CAYUELA, Asunción ROIG, Carlos SILVA a Miguel SÁNCHEZ-MONEDERO. Matrix effect on the performance of headspace solid phase microextraction method for the analysis of target volatile organic compounds (VOCs)

- in environmental samples. *Chemosphere* [online]. Elsevier Ltd, 2013, **93**(10), 2311-2318 [cit. 2017-03-23]. ISSN 00456535.
- [34] CHRISTIAN, Gary, Purnendu DASGUPTA a Kevin SCHUG. *Analytical chemistry*. 7th ed. Hoboken: Wiley, 2014. ISBN 978-0-470-88757-8.
- [35] PAWLISZYN RESEARCH GROUP: SPME. *University of waterloo* [online]. Waterloo (Canada), b.r. [cit. 2017-04-10]. Dostupné z: <https://uwaterloo.ca/pawliszyn-group/>
- [36] PAWLISZYN, Janusz, ed., X. LE, ed., Xiang-Yang LI, ed. a Hian LEE, ed. *Comprehensive sampling and sample preparation: analytical techniques for scientists*. Amsterdam: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-12-381373-2.
- [37] MERMET, J.-M, M OTTO a M VALCÁRCEL. *Analytical chemistry: a modern approach to analytical science*. 2nd ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2004, 1181 s. ISBN 3527305904.
- [38] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi . I_*. 1. vyd. Lucie Nováková: Michal Douša, 2013, 299 s. : il. ISBN 9788026042433.
- [39] SKOOG, Douglas a James LEARY. *Principles of instrumental analysis*. 4th ed. Fort Worth: Harcourt Brace College Publishers, 1992, 700 s. ISBN 0030753988.
- [40] ZÝKA, Jaroslav. *Analytická příručka. I.díl*. 4. uprav. vyd. Praha : Bratislava: SNTL - Nakladatelství technické literatury ; Alfa, 1988, 678. : 271 obr., 68 tab.
- [41] URBAN, Jiri. *Gas chromatography* [online]. In: . b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <http://www.chromatographer.com/gas-chromatography/>
- [42] ČÁSLAVSKÝ, Josef. *Analytická chemie II - přednáška 9: Plynová chromatografie*. FCH VUT BRNO, 2017.
- [43] MIKEŠ, Otakar. *Laboratorní chromatografické metody*. Vyd. 1. Praha: SNTL, 1980, 673 s.
- [44] ČŮTA, František, Miloš HEJTMÁNEK, Milan KARLÍK, Zbyněk KSANDR, Zdeněk KUČERA, Bohumil POLEJ, Milan POPL a Karel VOLKA. *Instrumentální analýza*. 1. vyd. Praha: SNTL, 1986, 295 s.
- [45] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie II*. Vyd. 1. V Brně: Vutium, 2000, 347 s. : il. ; 29 cm. ISBN 8021417420.
- [46] ČÁSLAVSKÝ, Josef. *Analytická chemie II - přednáška 6: Hmotnostní spektrometrie*. FCH VUT BRNO, 2017.
- [47] LECO CORP., . *The Power of GC TOFMS* [online]. In: . b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <https://www.leco.com/component/edocman/?task=document.viewdoc&id=1685&Itemid>

d=1685

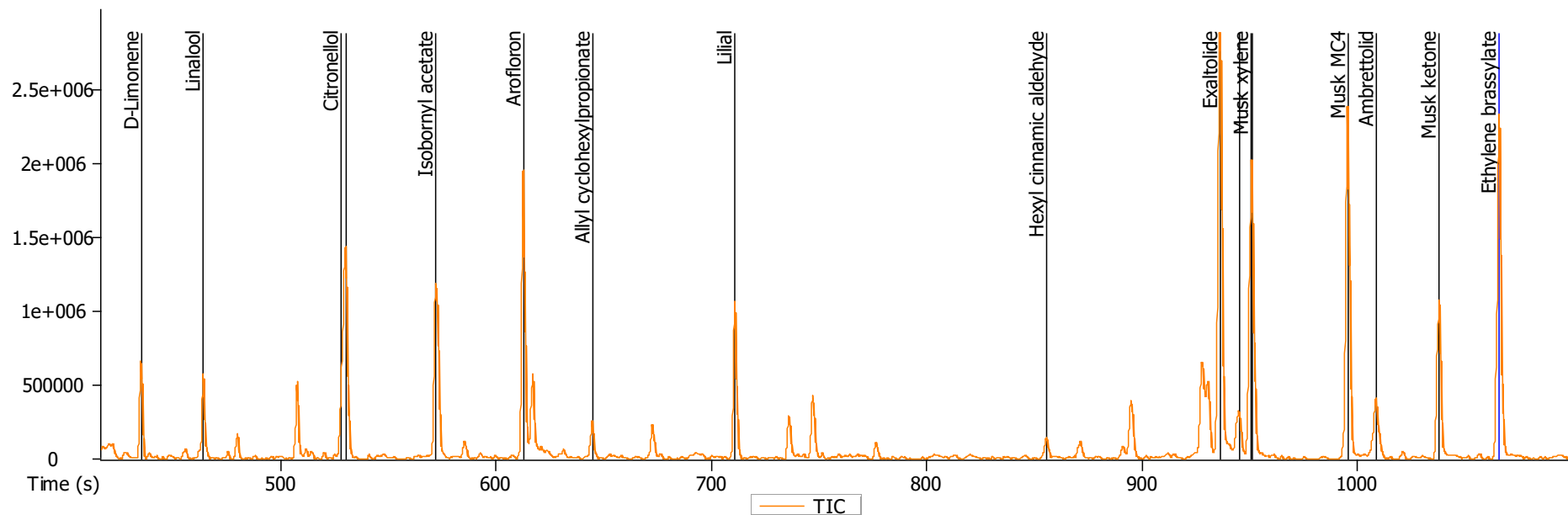
- [48] TOBKOVÁ, Lenka. *Kontaminace životního prostředí musk sloučeninami*. VUT v Brně: Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická, 2015, 114 stran : ilustrace.
- [49] ORMSBY, Mark. Analysis of Laminated Documents Using Solid-Phase Microextraction. *Journal of the American Institute for Conservation* [online]. Routledge, 2005, **44**(1), 13-26 [cit. 2018-05-08]. DOI: 10.1179/019713605806082400. ISSN 0197-1360. Dostupné z: <http://cool.conservation-us.org/jaic/articles/jaic44-01-002.html>
- [50] *Bioanalysis with SPME* [online]. In: . b.r. [cit. 2018-05-08]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/reporter-us/bioanalysis-with-spme.html>

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

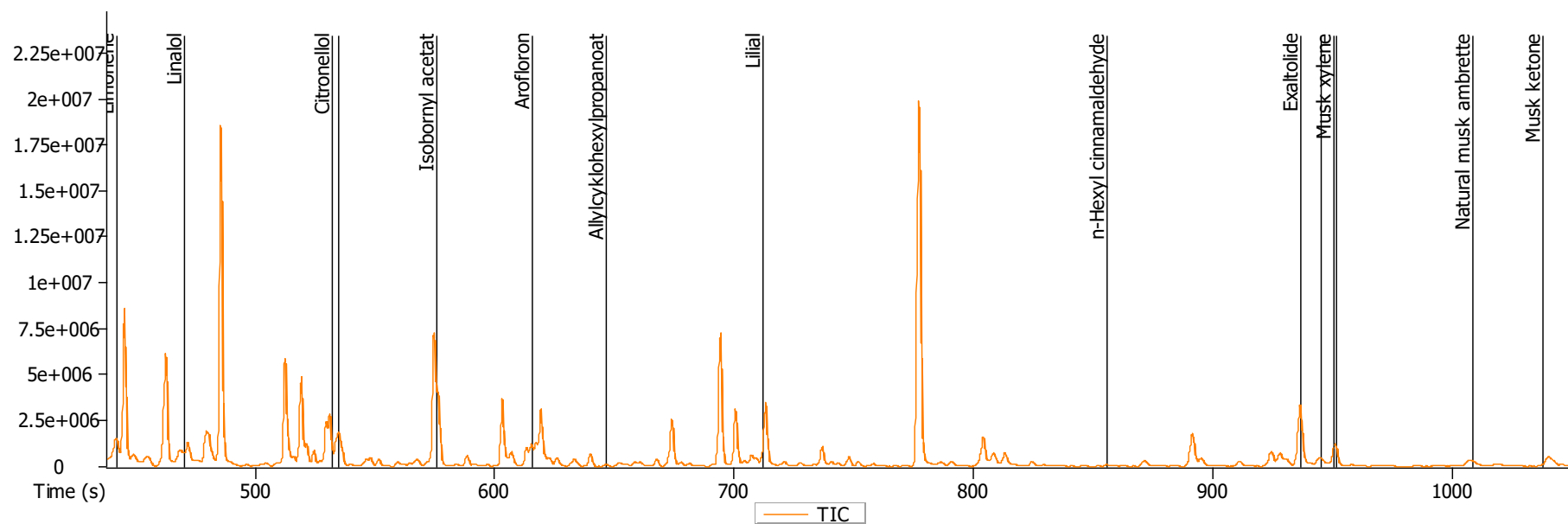
C 18	oxid křemičitý C18
CAR	carboxen
CAS	mezinárodně uznávaný jednoznačný číselný kód
CW	carbowax
ČOV	čistírna odpadních vod
DI-SPME	mikroextrakce tuhou fází s přímým ponořením
DVB	divinylbenzen
EPA	Agentura pro ochranu životního prostředí
GSC	plynová adsorpční chromatografie
HS-SPME	mikroextrakce tuhou fází se sorpcí z plynné fáze nad vzorkem
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
Kow	rozdělovací koeficient oktanol:voda
LC	kapalinová chromatografie
MALDI	matrix assisted laser desorption/ionization
MS	hmotnostní chromatografie
Musk	syntetické analogy pižma
PA	polyakrylát
PDMS	polydimethylsiloxan
PE	polyethylen
PEG	polyethylenglykol
SDME	mikroextrakce jednou kapkou
SPE	extrakce tuhou fází
SPME	mikroextrakce tuhou fází
TOF	průletový analyzátor

7 PŘÍLOHY

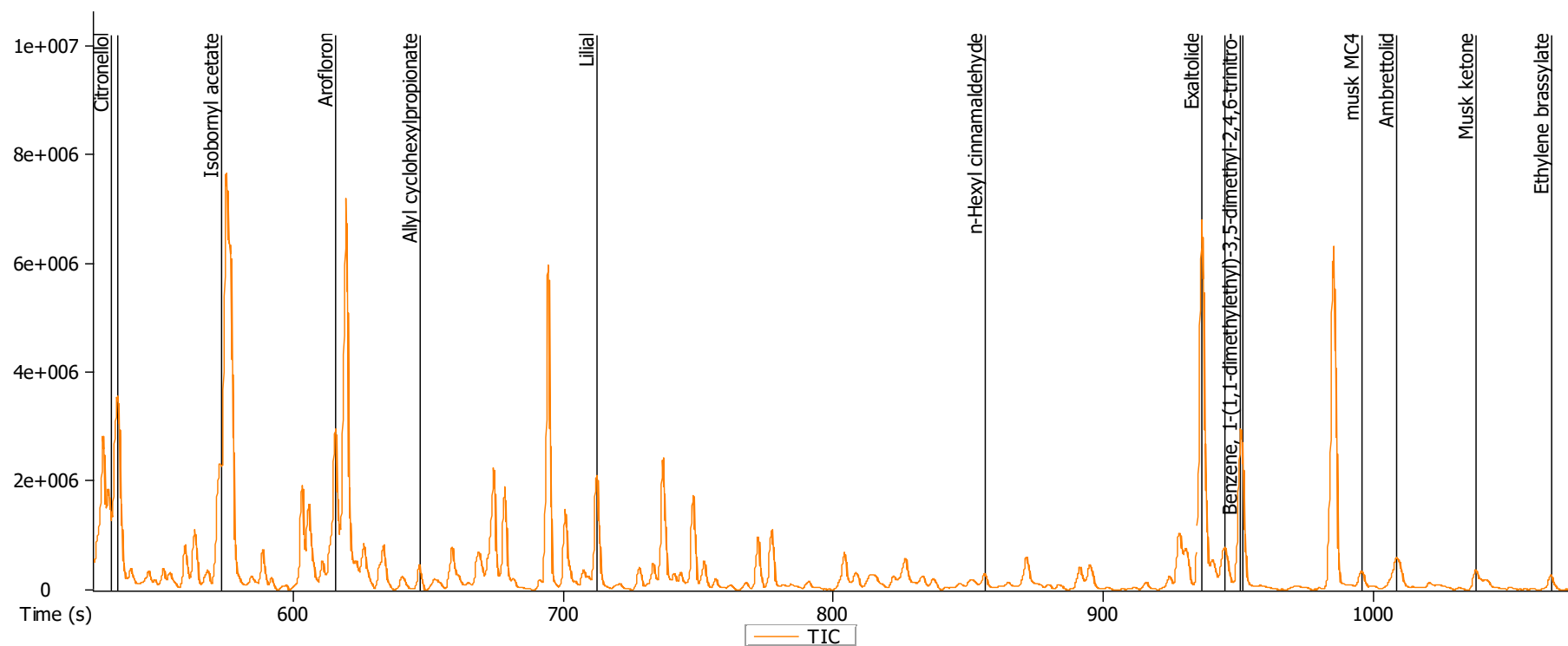
Příloha č. 1.: Chromatogramy



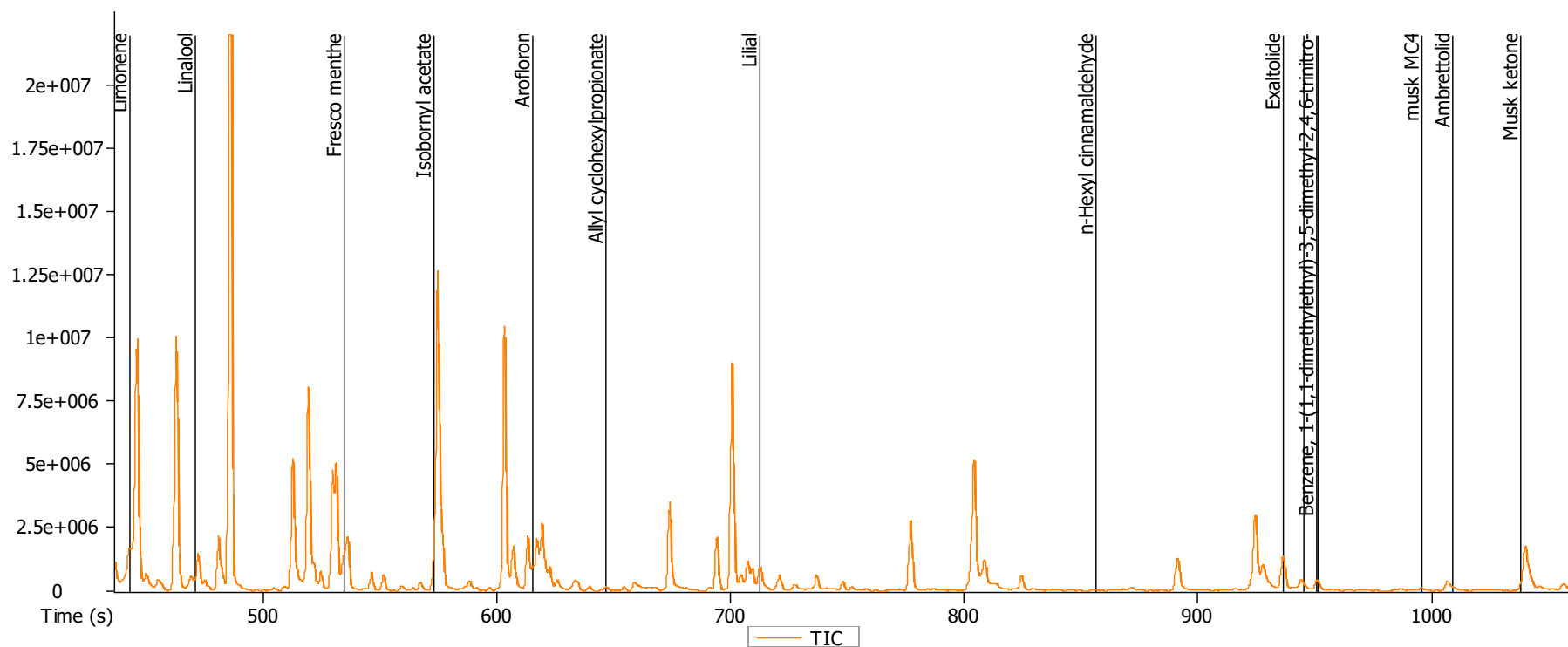
Obrázek 16: Chromatogram směsného standardu při kapalném nástřiku a tepelném programu TP3



Obrázek 17: Chromatogram směsného standardu při použití optimalizované metody SPME a teplotním programu TP3



Obrázek 18: Chromatogram směsného standardu při použití optimalizované metody SPME, teplotním programem TP3a vlivu vysolování

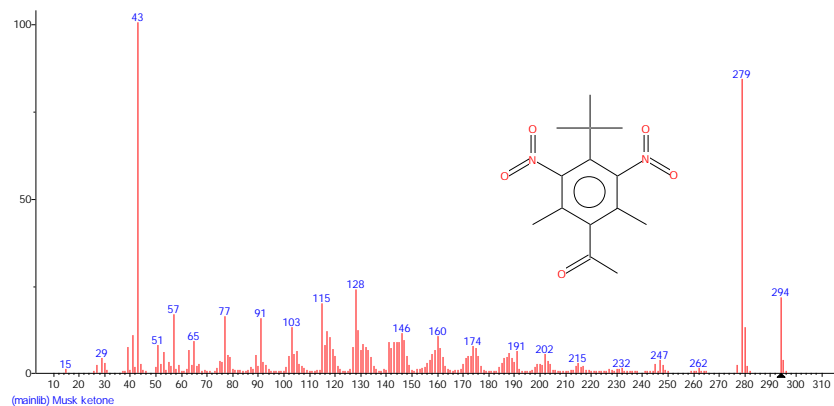


Obrázek 19: Chromatogram směsného standardu při použití optimalizované metody SPME, teplotním programem TP3 při přímém ponoření.

Příloha č. 2.: Porovnání naměřených spekter se spektry z knihovny spekter

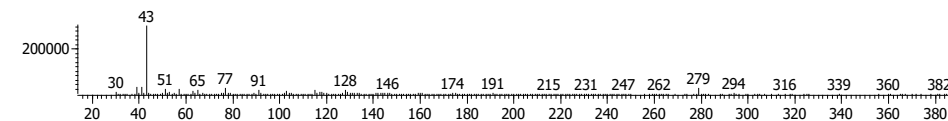
Knihovna

1. Musk Ketone

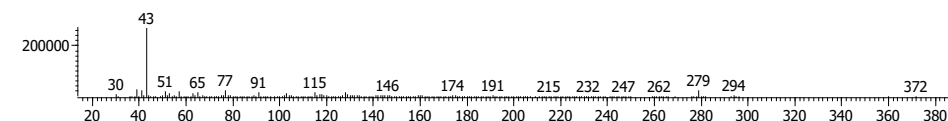


Experimentálně získané spektrum

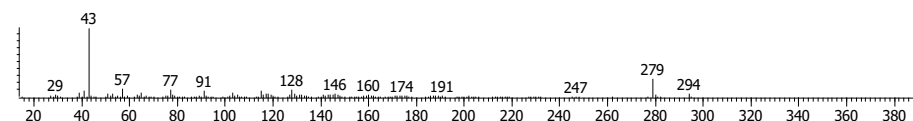
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 1038.11 s to 1038.11 s



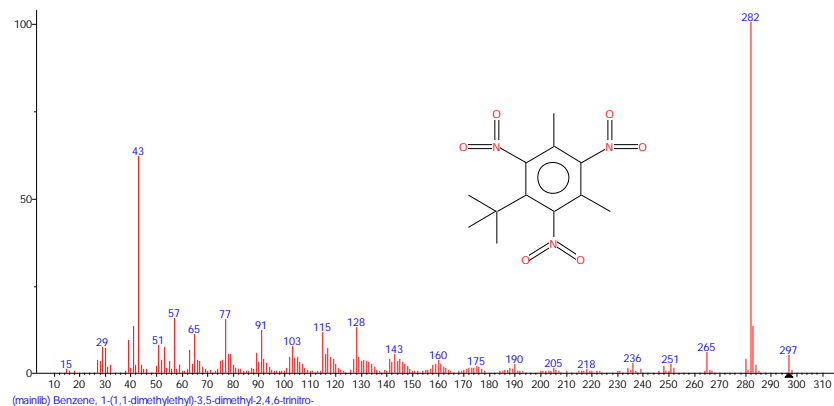
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 134, at 1038.11 s



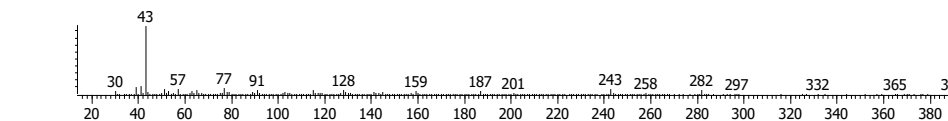
Library Hit - similarity 953, "Musk ketone"



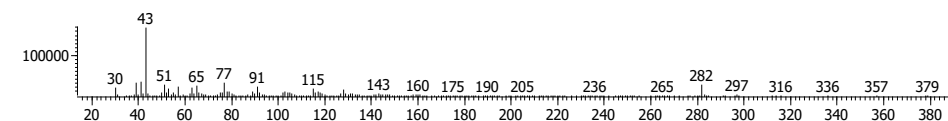
2. Musk Xylen



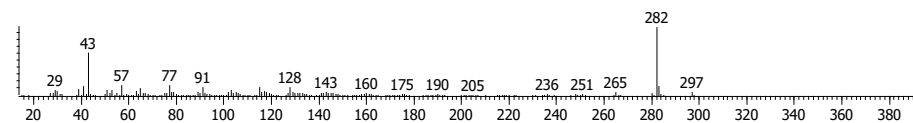
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 950.599 s to 950.599 s



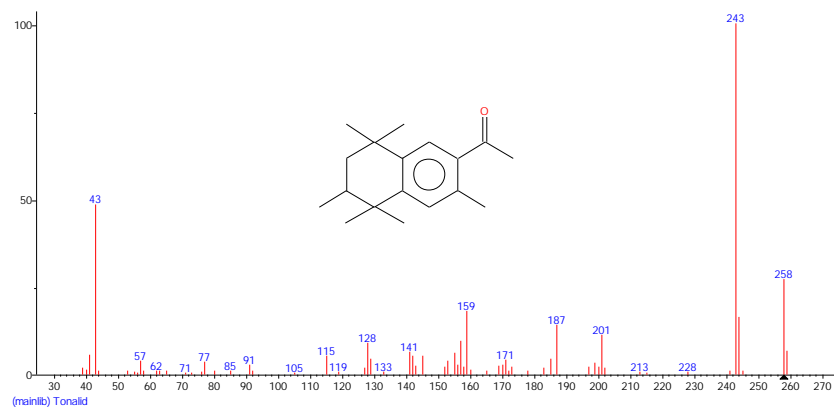
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 122, at 950.599 s



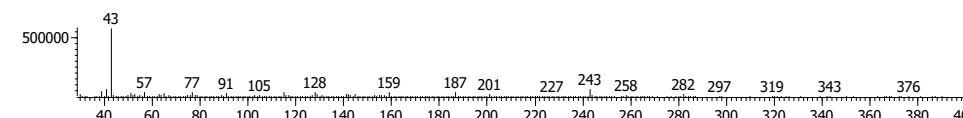
Library Hit - similarity 863, "Musk xylene"



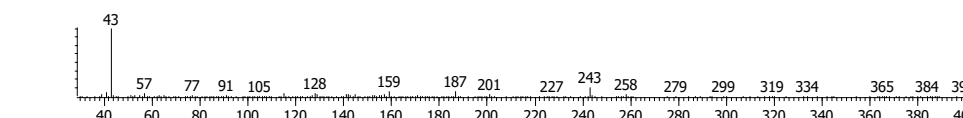
3. Tonalid



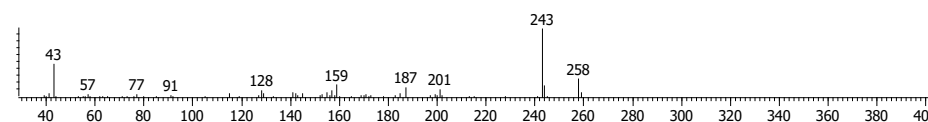
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 951.398 s to 951.398 s



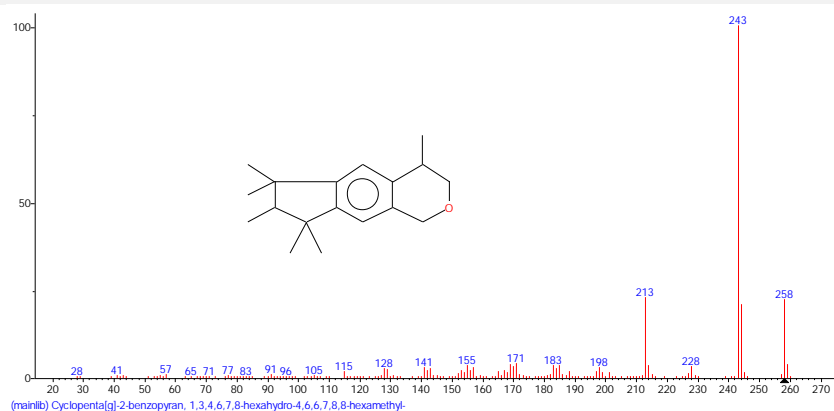
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 123, at 951.398 s



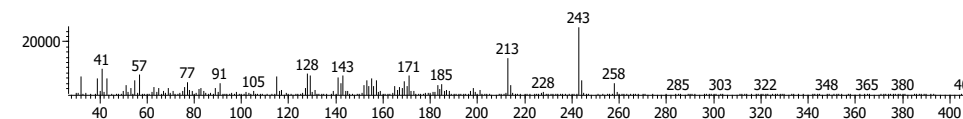
Library Hit - similarity 791, "Tonalid"



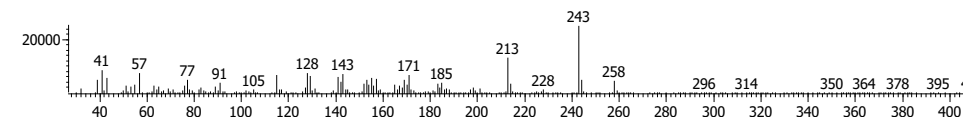
4. Galaxolid



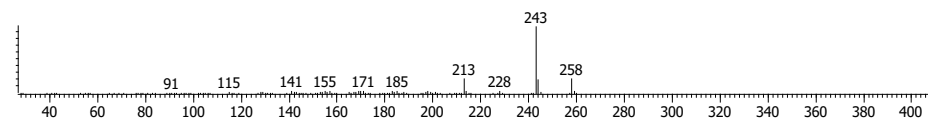
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 945.071 s to 945.071 s



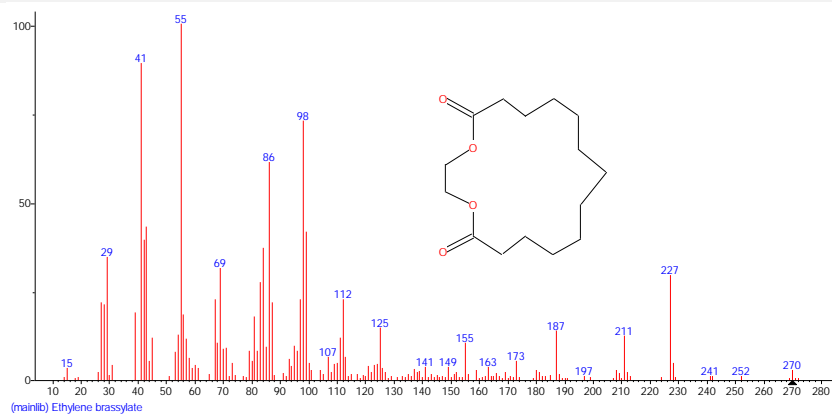
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 121, at 945.071 s



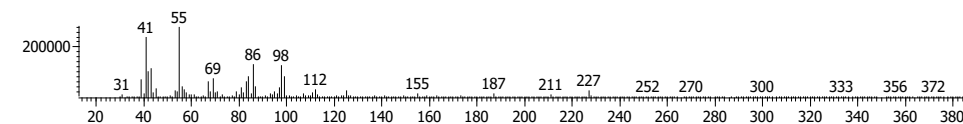
Library Hit - similarity 787, "Galaxolide"



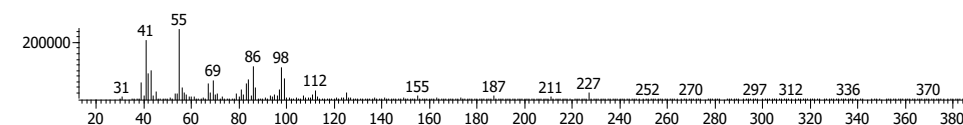
5. Ethylen brassylát



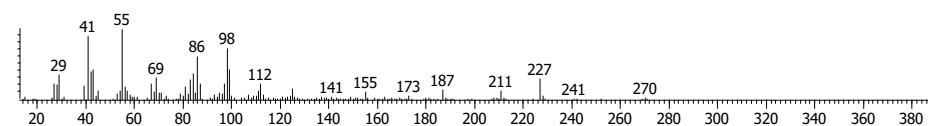
Calper - sample "17.4. 2pokus:1", 1066.02 s to 1066.02 s



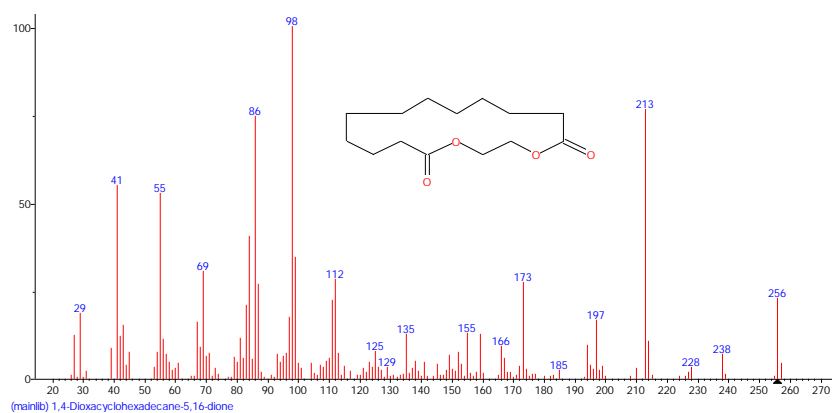
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 137, at 1066.02 s



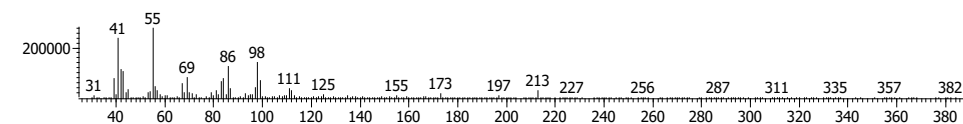
Library Hit - similarity 941, "Ethylene brassylate"



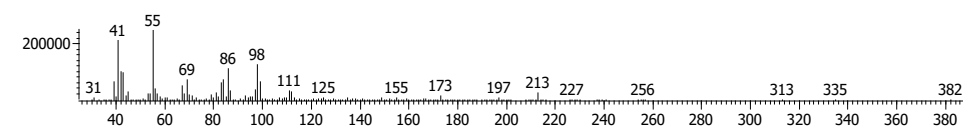
6. Musk MC4



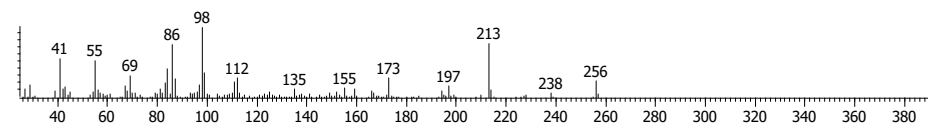
Calper - sample "17.4. 2pokus:1", 995.62 s to 995.62 s



Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 128, at 995.62 s

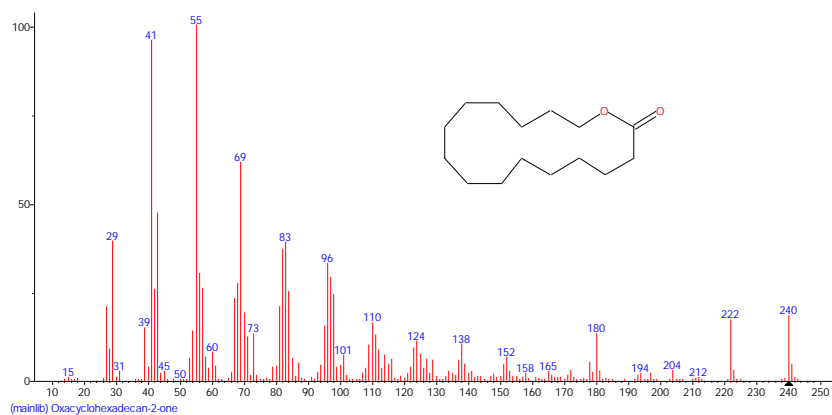


Library Hit - similarity 807, "1,4-Dioxacyclohexadecane-5,16-dione"

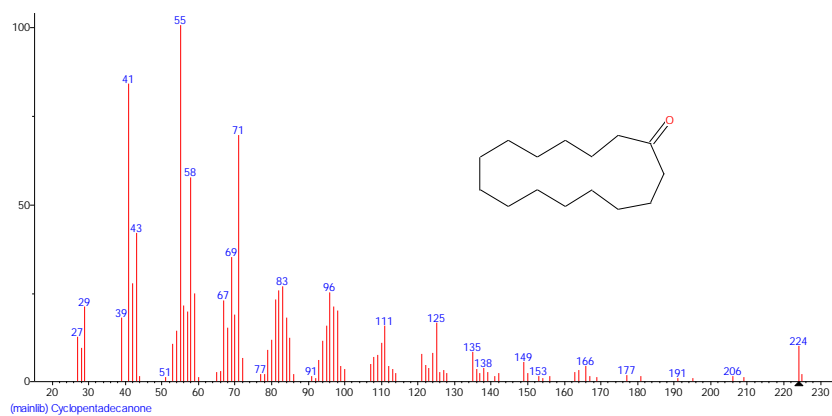


Knihovna

7. Exaltolide

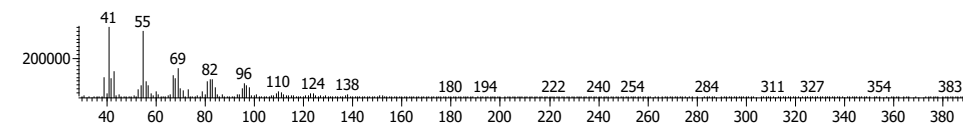


8. Habanolid

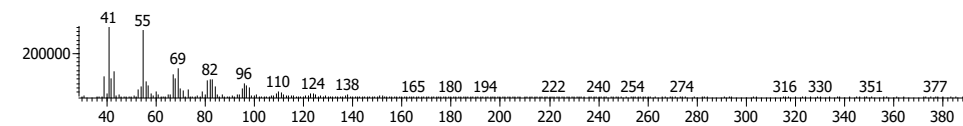


Experimentálně získané spektrum

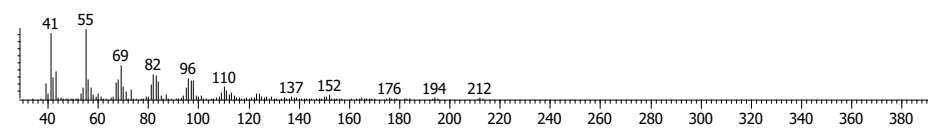
Calper - sample "17.4. 2pokus:1", 936.413 s to 936.413 s



Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 119, at 936.413 s

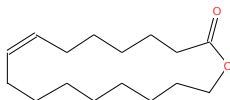
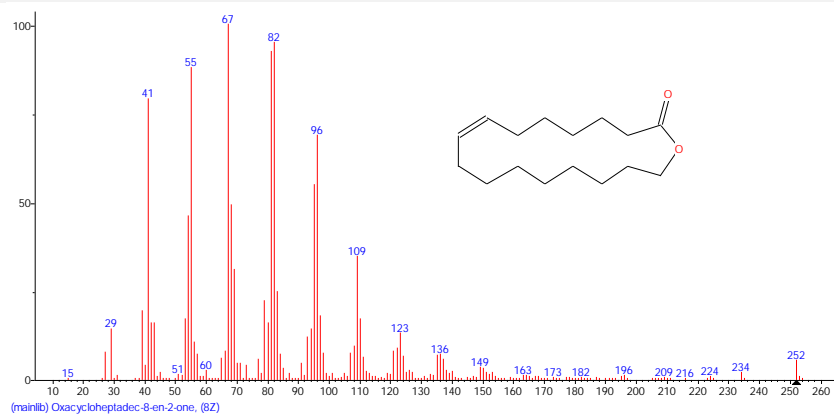


Library Hit - similarity 882, "Oxacyclotetradecan-2-one"

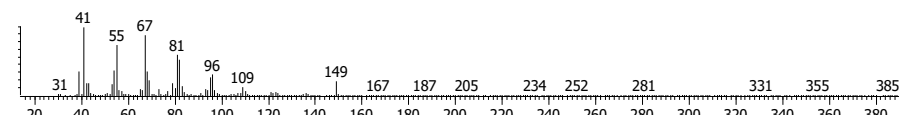


Nezměřeno.

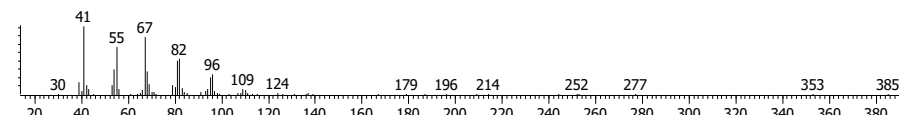
9. Ambrettolid



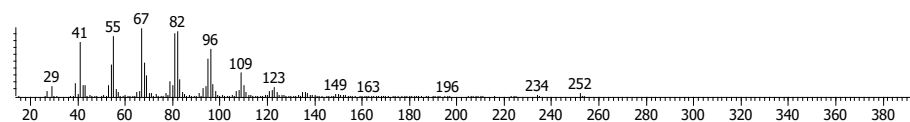
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 1008.61 s to 1008.61 s



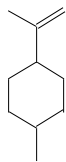
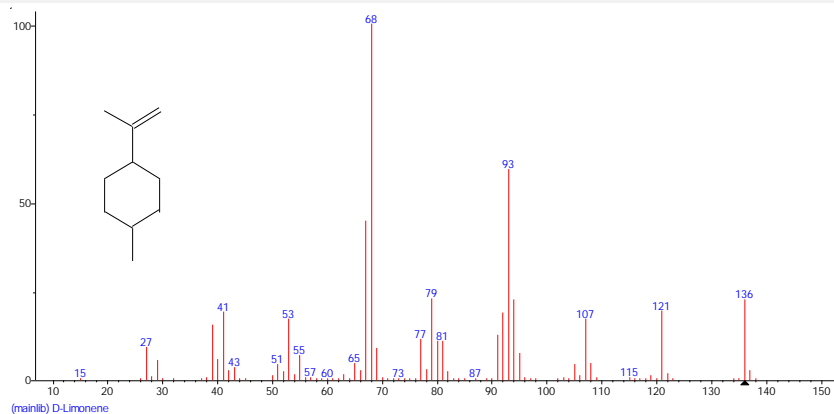
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 130, at 1008.61 s



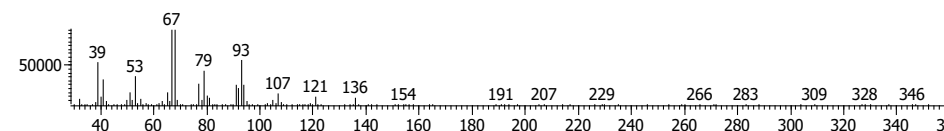
Library Hit - similarity 836, "Ambrettolid"



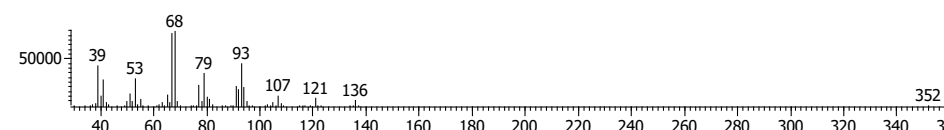
10. D-limonen



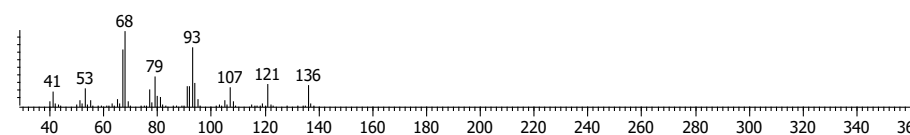
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 435.115 s to 435.115 s



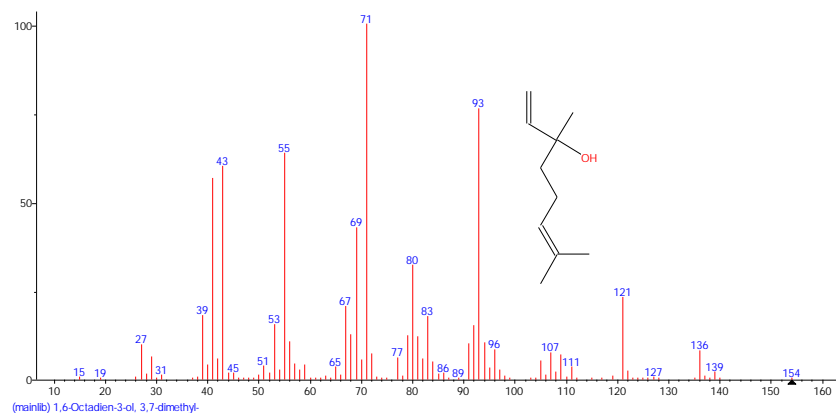
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 52, at 435.115 s



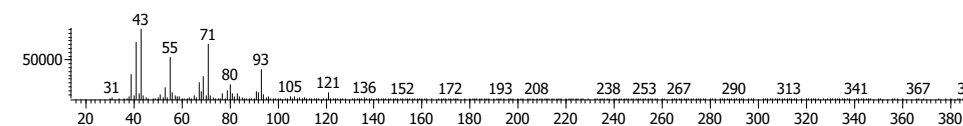
Library Hit - similarity 902, "D-Limonene"



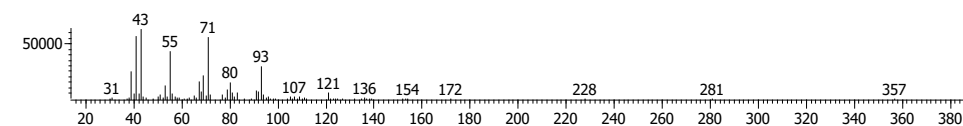
11. Linalool



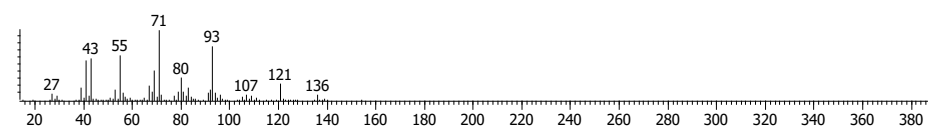
Calper - sample "17.4. 2pokus:1", 464.019 s to 464.019 s



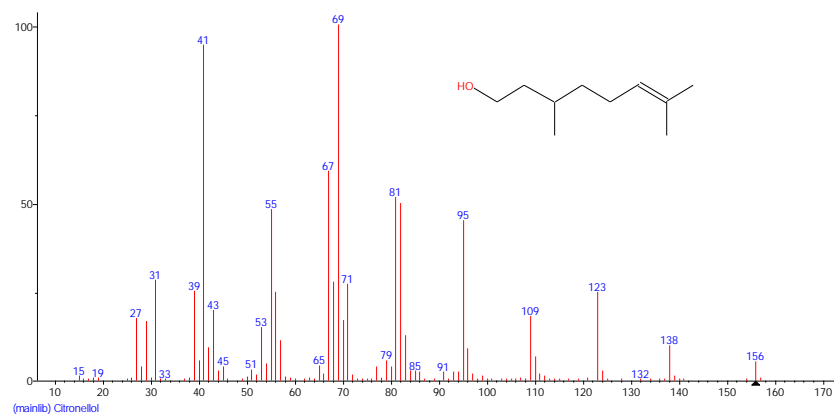
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 59, at 464.019 s



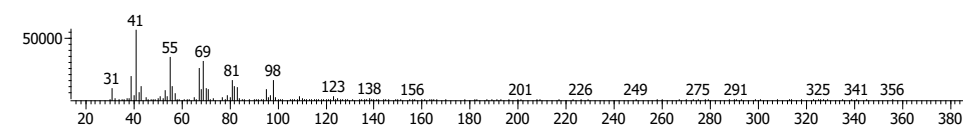
Library Hit - similarity 918, "Linalool"



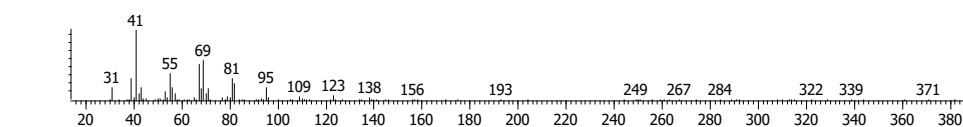
12. Citronellol



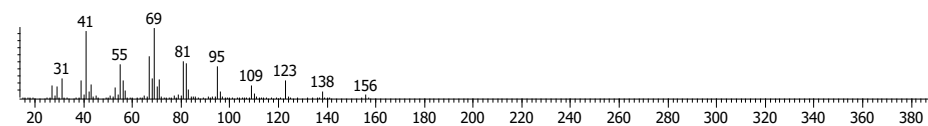
Calper - sample "17.4. 2pokus:1", 527.889 s to 527.889 s



Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 75, at 527.889 s

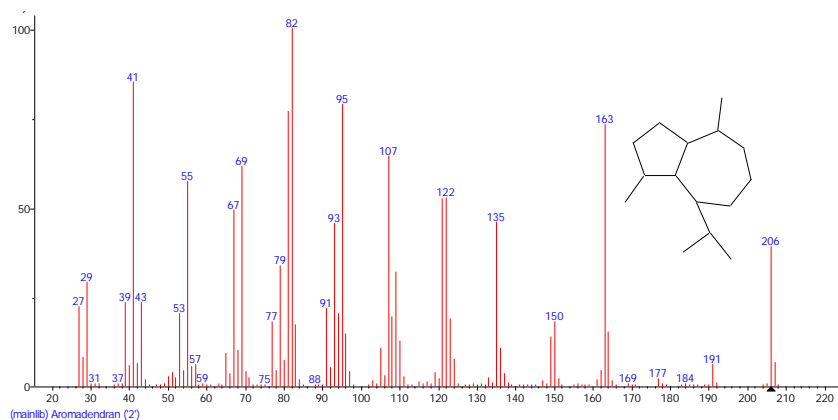


Library Hit - similarity 890, "Citronellol"

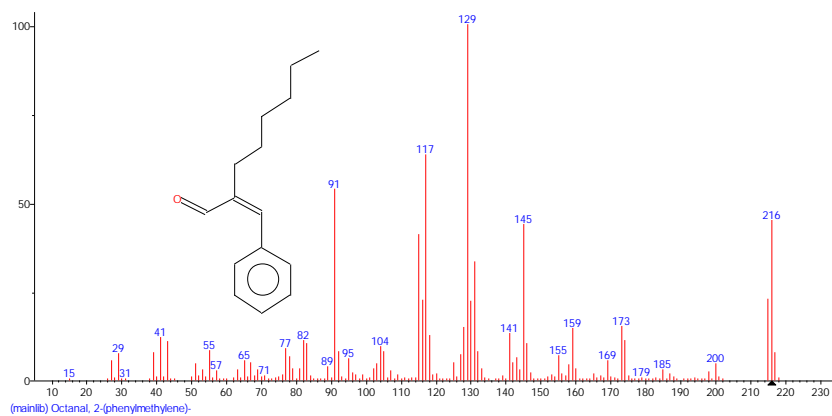


13. Arocet

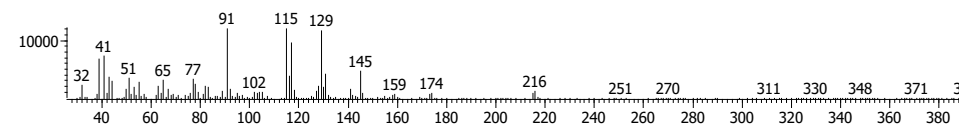
Nezměřeno.



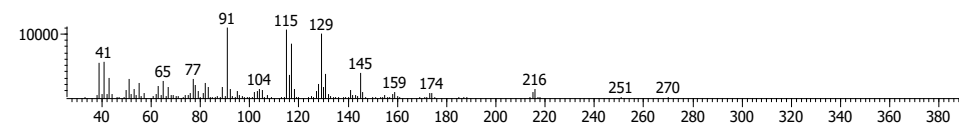
14. Hexyl cinnamaldehyd



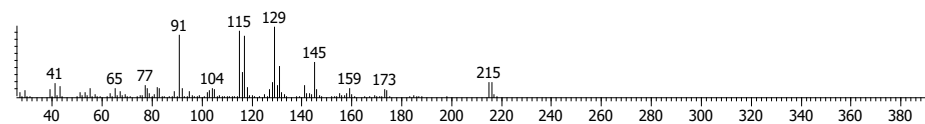
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 855.561 s to 855.561 s



Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 109, at 855.561 s



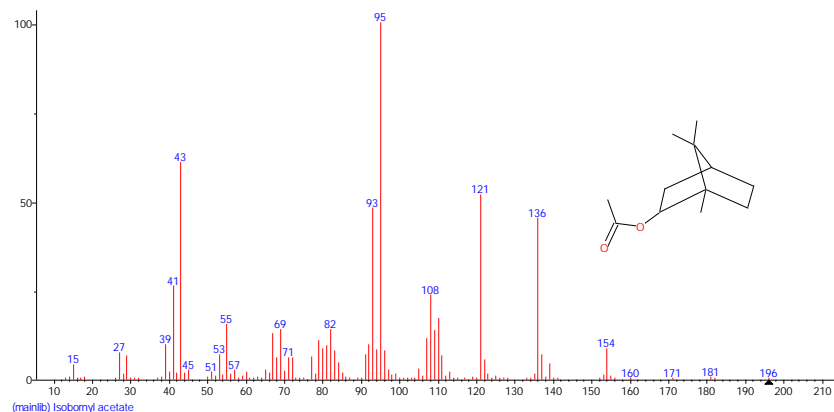
Library Hit - similarity 916, "Hexyl cinnamic aldehyde"



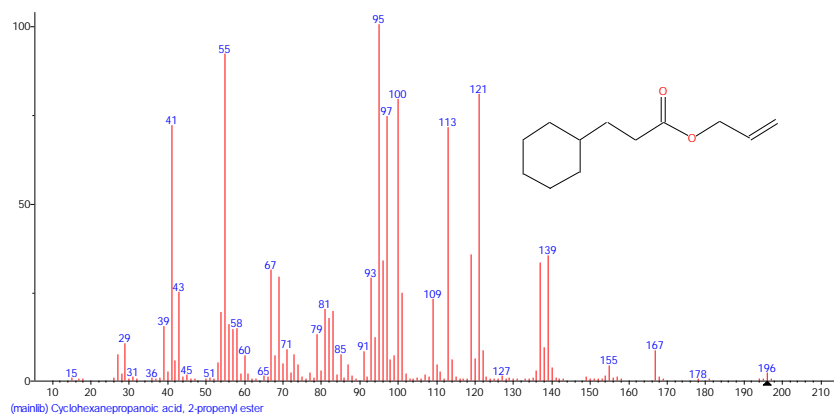
Knihovna

Experimentálně získané spektrum

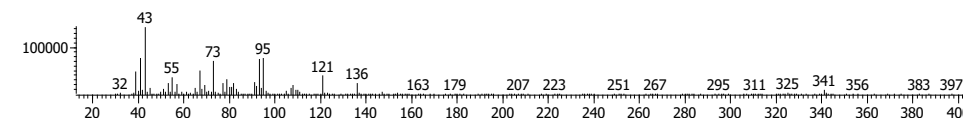
15. Isobornyl acetát



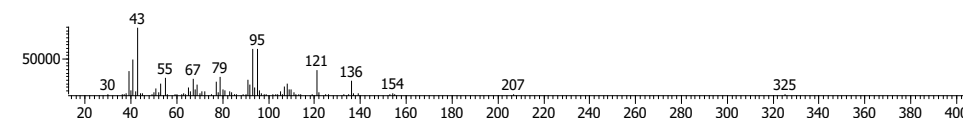
16. Allyl cyklohexyl propionát



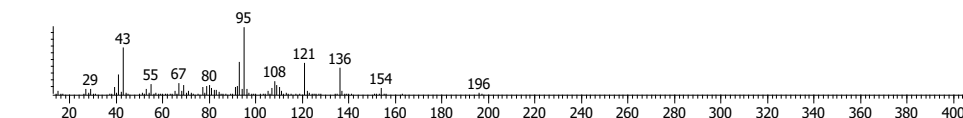
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 572.044 s to 572.044 s



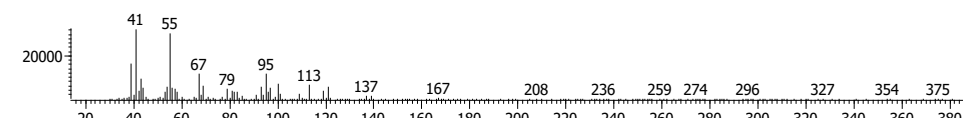
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 84, at 572.044 s



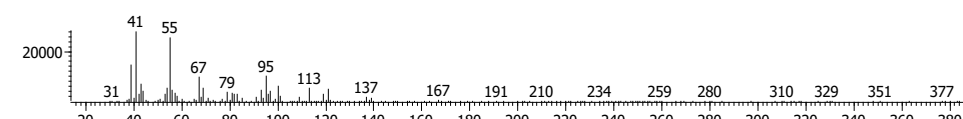
Library Hit - similarity 863, "Bornyl acetate"



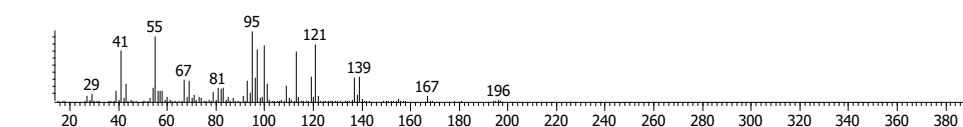
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 644.705 s to 644.705 s



Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 96, at 644.705 s

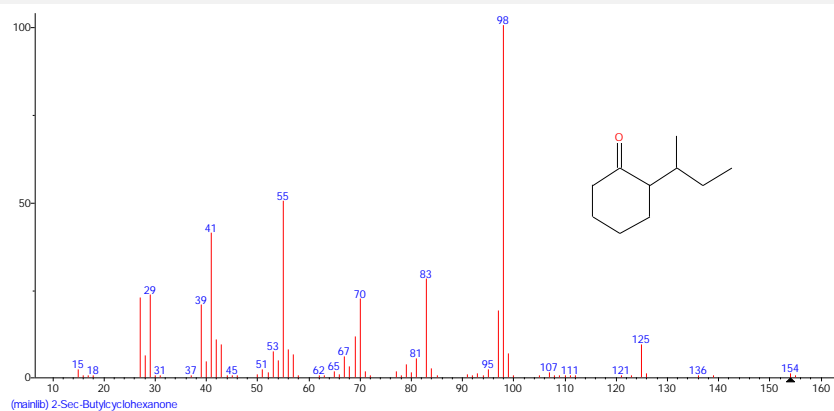


Library Hit - similarity 838, "Allyl cyclohexylpropionate"



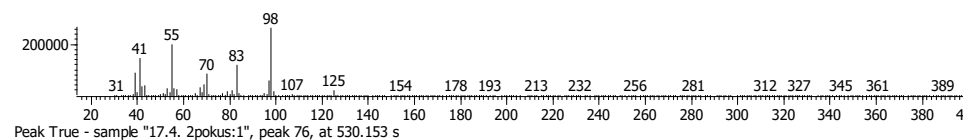
Knihovna

17. Fresco menthe

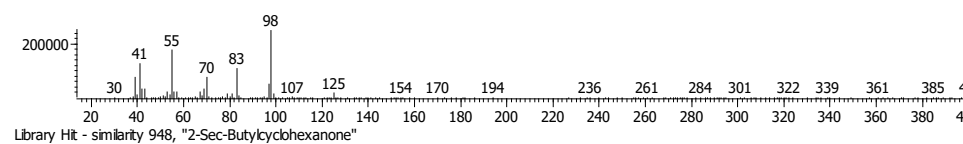


Experimentálně získané spektrum

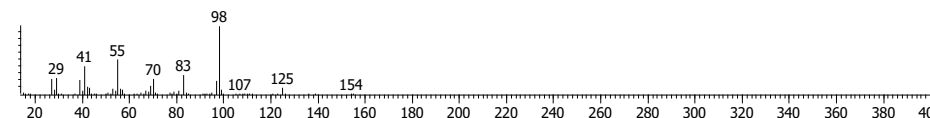
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 530.153 s to 530.153 s



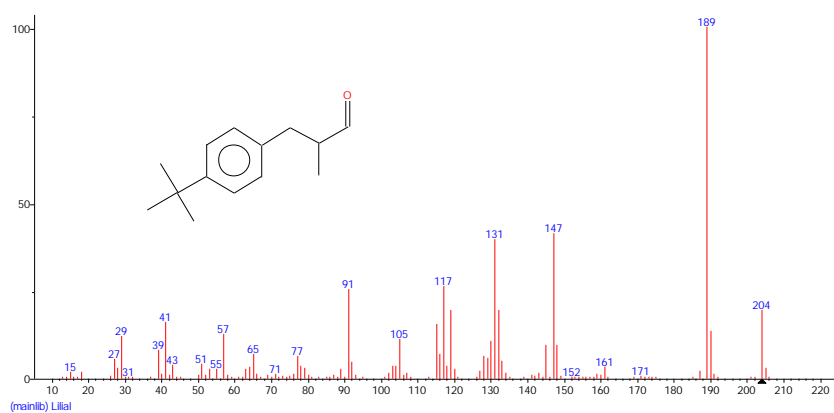
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 76, at 530.153 s



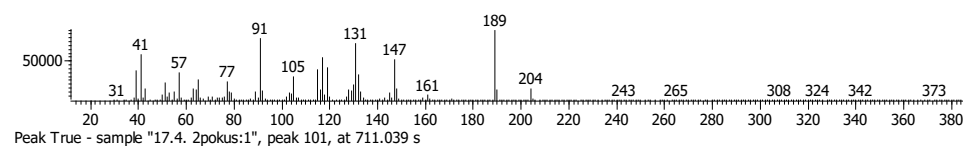
Library Hit - similarity 948, "2-Sec-Butylcyclohexanone"



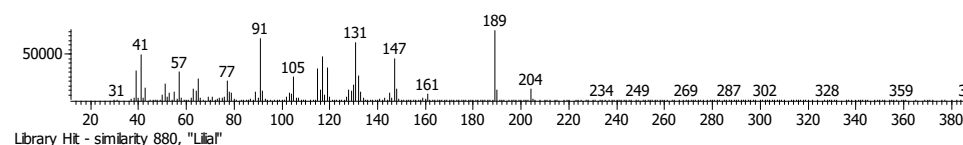
18. Lilial



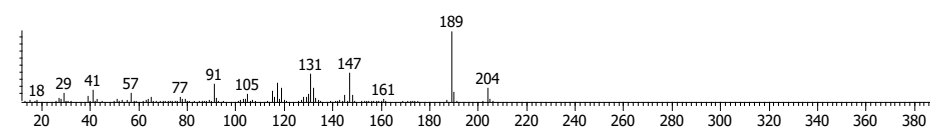
Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 711.039 s to 711.039 s



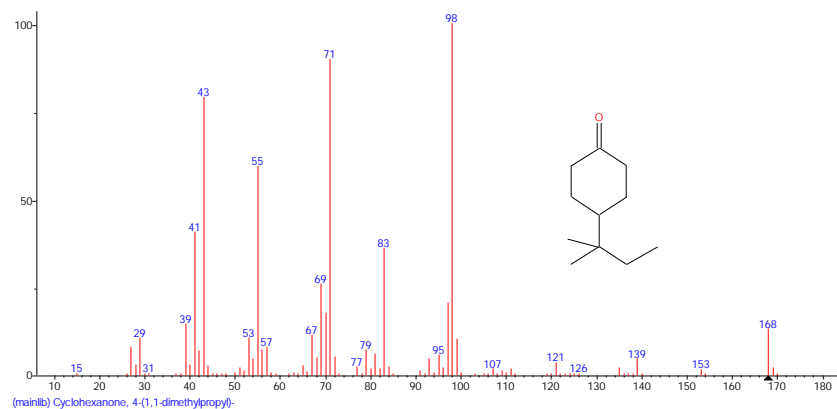
Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 101, at 711.039 s



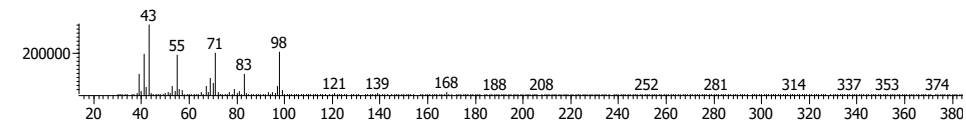
Library Hit - similarity 880, "Lilial"



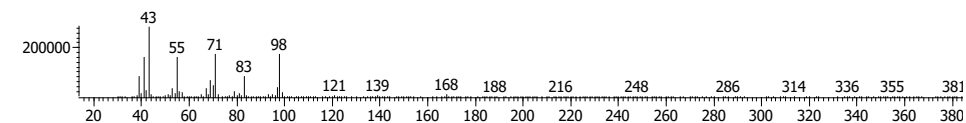
19. Arofloron



Caliper - sample "17.4. 2pokus:1", 612.737 s to 612.737 s



Peak True - sample "17.4. 2pokus:1", peak 90, at 612.737 s



Library Hit - similarity 942, "Cyclohexanone, 4-(1,1-dimethylpropyl)-"

